Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

154. BAND, 5. HEFT

MIT 4 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 7. JANUAR 1957)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1957

Z. anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28/30
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 405 35

Band 154 **Inhaltsverzeichnis** Heft 5

Originalabhandlungen Seite

Oelschläger, W., Colorimetrische Bestimmung kleiner Mengen Aluminium mit Alizarin S in biologischen und anderen Materialien 321

Oelschläger, W., Fehlerquellen bei der mikroanalytischen Aluminiumbestimmung durch Auslaugen von Glas und Verunreinigungen der Chemikalien 329

Krauss, W., H. Caspers und **F. Käsbauer**, Kritische Bemerkungen zur colorimetrischen Bestimmung organischer Substanzen vermittels polarisierter Zustände insbesondere im biologischen Material. II. Mit 2 Textabbildungen 333

Sharma, N. N., Cerate-Chromate Oxidimetry. Part I. Oxidation of Carbohydrates 340

Mukerjee, H. G., Electro-Migration on Filterpaper in the Separation of Ions 344

Mathur, K. C., and **A. K. Dey**, Disodium-1,8-dihydroxy-naphthalene-3,6-disulphonate (Chromotropic Salt) as a Reagent in Inorganic Analysis. Colour Reactions with Metallic Ions 347

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Institut für Tierernährungslehre an der Landw. Hochschule Hohenheim
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Wöhlbier)

Colorimetrische Bestimmung kleiner Mengen Aluminium mit Alizarin S in biologischen und anderen Materialien

Von
W. Oelschläger

(Eingegangen am 7. April 1956)

Zur colorimetrischen Aluminiumbestimmung in den oben genannten Materialien ziehen wir das Verfahren mit Alizarin S (alizarinsulfosaurem Natrium) [2, 4] anderen in der Literatur vorgeschlagenen Verfahren vor. Die Alizarin S-Methode ist einfach durchzuführen, das Farbmaximum des Al-Alizarinfarblackes wird sofort erreicht und die Farbintensität bleibt über mehrere Stunden absolut konstant. Fehler, welche durch Auslaugen des stets mehrere Prozente Aluminium enthaltenden Glases (auch Jenaer Geräteglas) entstehen können, werden dadurch verhütet, daß die Analyse in Quarzgeräten durchgeführt wird. Durch Verunreinigungen der Chemikalien, sogar der pro analysi-Präparate, können ebenfalls beachtliche Al-Gehalte vorgetäuscht werden[5]. Die hierdurch entstehenden Fehler werden ausgeschaltet, indem man die gleichen Reagentien bei der Aufstellung der Eichkurve verwendet.

Abtrennung des Aluminiums von anderen Mineralstoffen

Die Abtrennung geringer Mengen Aluminium von anwesenden Störelementen kann man schnell und quantitativ nach der Acetatmethode durchführen. Als „Sammler" für das Aluminium eignen sich Eisenphosphat und das mit Acetat und Fe^{III} in der Hitze sich bildende basische Eisen(III)-acetat. Man versetzt die zu untersuchende Lösung entgegen den Angaben von Lepper[3] bereits vor dem Neutralisieren mit der notwendigen Menge Acetat, da bei nachheriger Zugabe der p_H-Wert der Lösung zu hoch wird und Calcium mit dem Al-Fe-Niederschlag ausfallen kann. Das Calcium würde bei der folgenden Isolierung des Eisens mit Natronlauge wieder als Calciumphosphat ausfallen und könnte eine gewisse Menge Aluminium adsorbieren. Nach dem Zentrifugieren des Acetatniederschlags wird die überstehende Lösung so gut als möglich abgesaugt; etwa zurückbleibende größere Mengen Acetat würden beim Anfärben mit Alizarin S die Erkennung des Umschlages erschweren. Als Indicator zur Neutralisation der acetathaltigen Lösung ist Bromkresolgrün wegen der besseren Sichtbarkeit des Farbumschlags dem Methylorange vorzuziehen. Der Farbumschlag von Methylrot erfolgt bei zu hohem p_H-Wert.

Abtrennung des Eisens von Aluminium mit Natronlauge

Vor der colorimetrischen Al-Bestimmung muß das im Acetatniederschlag vorhandene Eisen quantitativ entfernt werden. Die Abtrennung kann nach unseren Versuchen (vgl. S. 326) sehr gut mit Natronlauge erfolgen, wenn man die NaOH-Konzentration in gewissen Grenzen hält. Zum Filtrieren werden feinporige Hartfilter (Schl. & Sch. 1507) verwandt, da durch Filter mit größerem Porendurchmesser eine geringe Fe-Menge in das Filtrat gelangt. Durch Adsorption von Aluminium an Eisen(III)-hydroxyd können beträchtliche Fehler entstehen. Sie lassen sich aber auf geringe Beträge herabsetzen, wenn man nicht zu viel Eisen als Sammler anwendet und mit Lauge von ausreichender Konzentration fällt. Um die Fehler praktisch vollständig auszuschalten, setzt man den Eichlösungen die gleichen Mengen Eisen(III)-salz und Lauge zu wie den zu analysierenden Proben und behandelt Analysen- und Eichlösungen vollkommen gleichartig.

Beim höchsten Eichpunkt (110 μg Al) ergeben sich dann keine größeren Abweichungen als 0,3 μg Al. Bei kleineren Al-Gehalten werden die Abweichungen entsprechend geringer.

Auch bei Proben, die sehr viel Eisen enthalten (z. B. Blut, Stahl usw.) sind die Fehler gering, wenn man das Eisen nach der Abtrennung mit Acetat möglichst weitgehend beseitigt.

Dies erfolgt sehr schnell dadurch, daß man den bei der Acetatabtrennung erhaltenen Niederschlag in 5 ml konz. Salzsäure löst, dieselbe Menge Wasser zugibt und die Eisen(III)-chlorwasserstoffsäure so oft mit Äther ausschüttelt, bis dieser farblos bleibt. Wie Versuche ergeben, geht dabei kein Aluminium in den Ätherextrakt. Selbst große Fe-Mengen kann man so in wenigen Minuten entfernen. Bei Anwendung von 500 mg Eisen und jeweils etwa 15 ml Äther ist der wäßrige Extrakt bereits nach 4maligem Ausschütteln von jeweils 1—2 min vollständig farblos. In 12 Parallelversuchen fand man in den wäßrigen Phasen nur noch Fe-Mengen zwischen 25 und 70 μg. Die fast eisenfreie Lösung läßt man in eine Quarz- oder Platinschale ab, dampft zur Trockne ein, nimmt mit 1 ml 6 n Schwefelsäure und einigen Millilitern Wasser unter Erwärmen auf und überspült die Lösung in einen Quarz-Erlenmeyer-Kolben. Dann trennt man die restliche Menge Eisen, wie in der Arbeitsvorschrift beschrieben, mit Natronlauge ab. Die konz. Salzsäure enthält besonders nach längerer Aufbewahrung in Glasflaschen merkliche Mengen Aluminium. Diese Fehlerquelle muß bei der Aufstellung der Eichkurve berücksichtigt werden. Dies erfolgt einfach dadurch, daß man für jeden Eichpunkt zunächst 5 ml konz. Salzsäure in den obigen Schalen abdampft, mit jeweils 1 ml 6 n Schwefelsäure und einigen Millilitern Wasser aufnimmt, in Quarz-Erlenmeyer-Kolben überspült und zu diesen die entsprechenden Mengen der Standardlösung zugibt. Dann trennt man die in der Salzsäure enthaltene Fe-Menge, wie in der Arbeitsvorschrift beschrieben, mit Natronlauge ab.

Colorimetrische Bestimmung mit Alizarin S

Die eisenfreie Aluminatlösung säuert man mit Schwefelsäure an und versetzt mit Alizarin S-Lösung. Anschließend wird die Lösung mit Ammoniak neutralisiert, wobei sich die zunächst saure, gelbe Lösung

orange färbt. Der erste überschüssige Tropfen Ammoniaklösung erteilt der Lösung eine dunkelrote Farbe. Nach MUSSAKIN[4] soll man hierauf eine Pufferlösung vom p_H-Wert 3,6 zufügen und in einem Meßkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen. Die von MUSSAKIN angegebene Pufferlösung (22,2 g Eisessig und 4,1 g Natriumacetat/2 l) ist aber zu schwach, weshalb geringe und unvermeidliche OH^--Schwankungen bei der Neutralisation unterschiedliche Ergebnisse verursachen. Weitere Nachteile sind, daß der Al-Alizarinfarblack bald ausflockt und die Farbintensität wegen des zu niedrigen p_H-Wertes der Pufferlösung schnell abnimmt. Nach unseren Befunden wird eine sehr stabile Al-Alizarinadsorptionsverbindung erhalten, wenn man nach der Neutralisation 5 Tropfen Ammoniak im Überschuß zugibt, dann Phosphat zufügt und schließlich eine wesentlich stärkere Pufferlösung von höherem p_H-Wert (p_H 3,92) (s. S. 324) anwendet, als von MUSSAKIN empfohlen. Wie man aus Tab. 1 ersieht, bewirkt vor allem Phosphat eine so stabile Färbung, daß die Extinktion mindestens 8 Std unverändert bleibt. Außerdem flockt der Farbstoff selbst nach tagelanger Aufbewahrung der angefärbten Lösung nicht aus.

Die Versuche der Tab. 1 wurden wie folgt ausgeführt: Bei Versuch 1 wurden in 100 ml-Meßkolben 100 μg Aluminium, 2 ml 6 n Schwefelsäure, 5 ml 2 n Natronlauge und 10 ml 0,1%ige Alizarin S-Lösung gegeben, dann neutralisierte man mit etwa 2 n Ammoniaklösung bis zum Umschlag, versetzte mit 70—80 ml der Pufferlösung nach MUSSAKIN (s. oben) und füllte mit Wasser bis zur Marke auf. Der Versuch 2 unterscheidet sich vom obigen nur dadurch, daß anstelle jener Pufferlösung 20 ml der S. 324 angegebenen Pufferlösung (p_H 3,92) zugegeben wurden. Versuch 3 wurde ebenso ausgeführt, nur gab man nach dem Neutralisieren 5 Tropfen Ammoniak im Überschuß zu. Versuch 4 unterscheidet sich von 3 dadurch, daß vor Hinzufügen der 20 ml Pufferlösung 5 ml 5%ige Lösung von sekundäremAmmoniumphosphat zugegeben wurden. In allen Fällen wurden die entsprechenden Eichkurven hergestellt.

Tabelle 1. *Abnahme der Farbintensität des Al-Alizarinfarblackes*
Anfangsintensität gleich 100 gesetzt

Versuche Nr.	Zeit der Messung nach dem Anfärben						
	sofort	5 min	10 min	15 min	30 min	1 Std	2 Std
1	100	94	89	85	79	73	69
2	100	94	90	88	85	83	82
3	100	95	92	90	87	84	83
4	100	100	100	100	100	100	100

Extinktionskurve des Alizarinfarblackes

Das Absorptionsmaximum des Al-Alizarinfarblackes liegt entgegen den Angaben von SANDELL[6] nicht bei 580 mμ, sondern bei 500 mμ (Tab. 2, S. 324).

Tabelle 2. *Absorption des Al-Alizarinfarblackes in Abhängigkeit von der Wellenlänge*

Wellenlänge mμ	Durchlässigkeit in %	Wellenlänge mμ	Durchlässigkeit in %
470	24,9	505	17,1
480	20,4	510	18,3
490	17,2	520	23,1
495	16,6	530	30,0
500	16,5	540	54,3

Arbeitsvorschrift für die Aluminiumbestimmung in sehr wenig Eisen enthaltenden biologischen Substanzen (z. B. Harn, Milch, Heu)

Reagentien: Da bei der Herstellung der Natronlauge in Glasgefäßen infolge der dabei auftretenden starken Erwärmung und durch längeres Stehen sehr beachtliche Al-Mengen aus dem Glas gelöst werden[5], muß die Herstellung und Aufbewahrung in Kunststoffflaschen (auch leeren H_2F_2-Flaschen) erfolgen. Auch Schwefelsäure, die Natriumacetat-, Wasch- und Pufferlösungen, bewahrt man vor allem bei längerem Gebrauch in diesen Gefäßen auf. Außerdem muß mit einer Quarzapparatur hergestelltes bidestilliertes Wasser verwandt werden. Im Eindampfrückstand von 100 ml des üblichen destillierten Wassers wurden 2 μg Aluminium und 2 μg Eisen gefunden.

1. Pufferlösung, p_H 3,92 : 230 g Eisessig und 100 g Natriumacetat bringt man in einen 2 Liter-Meßkolben und füllt mit Wasser bis zur Marke auf.

2. Al-freie Ammoniaklösung (etwa 2 n): Man beschickt den Boden eines leeren Exsiccators mit konzentriertem Ammoniak, stellt auf den Einsatz eine Quarzschale mit Wasser und beläßt sie ein paar Tage dort[1]. Nach der Titration gibt man zu der nunmehr stärker als 2 n gewordenen Lösung die entsprechende Menge Wasser zu und bringt die Lösung in eine Kunststoffflasche.

3. Standardlösung: Man löst 0,3518 g Kaliumaluminiumalaun ($K\,Al\,(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$) im 1000 ml-Meßkolben in Wasser und füllt mit Wasser zur Marke auf. 1 ml enthält 20 μg Al. Von dieser Lösung pipettiert man 100 ml in einen 200 ml-Meßkolben und füllt mit Wasser bis zur Marke auf (1 ml entspricht dann 10 μg Al).

Außerdem werden benötigt: 1%ige Eisen(III)-chloridlösung ($FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$), 5%ige sekundäre Ammoniumphosphatlösung, 0,1%ige Lösung von Bromkresolgrün in Äthylalkohol, 5%ige Natriumacetatlösung, 6 n Schwefelsäure, 2 n Natronlauge, Waschlösung (5 ml 2 n NaOH/l) und 0,1%ige Alizarin S-Lösung.

Bestimmung: Die oft angewandte nasse Veraschung in Glasgeräten ist abzulehnen, da die erforderlichen oxydierenden Säuren stets Aluminium enthalten und bei der Operation außerdem eine geringe Menge Al aus dem Glas gelöst wird. Demgegenüber kann Salzsäure, die zum Lösen der trocken veraschten Probe in Platinschalen bei etwa 550° C verwandt wird, sehr leicht Al-frei hergestellt werden. Hierzu kann man ähnlich wie bei der Ammoniak-Herstellung vorgehen oder schneller durch Eintropfen von konz. Schwefelsäure in konz. Salzsäure Chlorwasserstoff entwickeln und in einen Behälter aus Quarz oder Polyäthylen mit bidestilliertem Wasser einströmen lassen. Bei der Veraschung von Heu muß die relativ stark adsorbierende Kieselsäure mit 1—2 ml Flußsäure entfernt werden. Da aber Fluor-Ion die Farbintensität der Al-Alizarinadsorptionsverbindung vermindert[5], muß es durch Zugabe einiger Tropfen konz. Schwefelsäure und darauffolgendem Abrauchen wieder quantitativ entfernt werden.

2—8 ml der salzsauren Lösung der Probe pipettiert man in ein etwa 15 ml fassendes Quarz-Zentrifugenröhrchen mit Spitzboden, ergänzt nötigenfalls mit Wasser bis auf etwa 8 ml und gibt 1 ml 1%ige Eisen(III)-chlorid-, 0,5 ml 5%ige sek. Ammoniumphosphat-, 1 ml 5%ige Natriumacetat- und 3 Tropfen 0,1%ige Bromkresolgrünlösung zu. Dann fügt man tropfenweise etwa 2 n Ammoniaklösung bis zum Umschlag nach Bläulichgrün zu, wobei nach jeder Zugabe mit einem dünnen Glasstab durchgemischt wird. Man spült den Glasstab sofort mit wenigen Tropfen Wasser ab, stellt das Röhrchen in ein mit schwach siedendem Wasser gefülltes Becherglas und behält es etwa 15 min darin. Dann zentrifugiert man etwa 15 min lang und saugt die überstehende Lösung durch ein unten sehr dünn ausgezogenes und umgebogenes Glasrohr mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe ab.

Zu dem im Zentrifugenröhrchen enthaltenen Rückstand gibt man 1 ml 6 n Schwefelsäure und etwa 5 ml Wasser, stellt zur rascheren Auflösung kurz in das mit heißem Wasser gefüllte Becherglas, überspült in einen 40—50 ml Quarz-Erlenmeyer-Kolben, wäscht das Röhrchen gut mit Wasser aus und ergänzt die Lösung mit Wasser auf etwa 30 ml. Man stellt den Erlenmeyer-Kolben auf ein lebhaft siedendes Wasserbad, gibt nach ungefähr 10 min 5 ml 2 n Natronlauge zu, beläßt weitere 30 min auf dem Wasserbad und kühlt dann ab. Hierauf filtriert man durch ein 9 cm-Hartfilter (Schl. & Sch. 1507) in einen 100 ml-Erlenmeyer-Kolben aus Quarz oder Jenaer Glas, den man zuvor mit 1 ml 6 n Schwefelsäure beschickt hat. Das Filter wird nur etwa bis zur Hälfte gefüllt. Ein Kriechen des Niederschlages an der inneren Faltstelle des Filters wird dadurch verhütet, daß man beim 1. Falten des Filters die 2 Ränder etwa ½ cm voneinander abstehen läßt. Dann befindet sich die innere Faltstelle nach Fertigstellung des Filters um diesen Betrag unter dem Filterrand. Der Erlenmeyer-Kolben wird mit 2×2 ml Waschlösung ausgespült, das Filter mit 1×2 ml Waschlösung ausgewaschen.

Zu dem schwach sauren Filtrat gibt man 10 ml 0,1%ige Alizarin S-lösung, neutralisiert tropfenweise aus einer Bürette mit der etwa 2 n Ammoniaklösung bis zum deutlichen Umschlag nach Dunkelrot, fügt noch 5 Tropfen Ammoniaklösung im Überschuß zu und versetzt mit 5 ml 5%iger Ammoniumphosphatlösung. Dann wird die Lösung in einen 100 ml-Meßkolben aus Jenaer Glas übergespült, mit 20 ml Pufferlösung (p_H 3,92) versetzt, mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und durchgemischt. Die Farbintensität der Lösung wird in einer 5 cm-Küvette bei 500 mμ gemessen.

Ausführung der Bestimmung in viel Eisen enthaltenden Substanzen (Blut, Stahl usw.)

Man verfährt zur Entfernung des Eisens wie S. 322 angegeben. Bei der Acetatabtrennung wird verständlicherweise kein Eisen und bei Anwesenheit von genügend Phosphat auch dieses Ion nicht zugegeben. Die zur Aufstellung der Eichkurve benötigten Lösungen werden entsprechend hergestellt.

Prüfung der Methode an einer synthetischen Lösung, die die gewöhnlichen Mineralbestandteile eines Heus enthält

Man bereitete eine Lösung, die in 2 Litern 22 g Calciumchlorid ($CaCl_2 \cdot 6\,H_2O$), 19 g Kaliumchlorid, 10 g Magnesiumsulfat ($MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$), 4,4 g sek. Ammoniumphosphat, 0,5 g Natriumchlorid, 0,2 g Eisen(III)-chlorid ($FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$), 0,16 g Mangan(II)-sulfat ($MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$), 0,016 g Kupfer(II)-sulfat ($CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$) nebst 40 ml konz. Salzsäure enthielt. Dieses Lösungsgemisch entspricht einem Heu mit 1% Ca, 2,5% K, 0,25% Mg, 0,3% P, 0,05% Na, 0,01% Fe, 0,01% Mn und 0,001% Cu. Von dieser Lösung wurden jeweils 5 ml mit den in Tab. 3 (S. 326) angegebenen Al-Mengen versetzt.

Wie man aus Tab. 3 ersehen kann, sind die gefundenen Aluminiumwerte durchschnittlich um 2,8 μg höher als die zugesetzte Menge. Dieser Pluswert ist auf den Aluminiumgehalt der Reagentien zurückzuführen. Zieht man 2,8 μg von den gefundenen Aluminiumgewichten ab, so stimmen die erhaltenen Zahlen sehr gut mit den angewandten Aluminiummengen überein. Die Fehlerbreiten sind sehr gering.

Tabelle 3
Prüfung der Methode an einer synthetischen Heulösung

Angewandt μg Al	Gefunden μg Al
10,0	12,7
30,0	32,5
50,0	53,0
70,0	72,3
90,0	92,9
110,0	113,2

Anhang

Eisen-Aluminiumtrennung mit Natronlauge

Bei Anwendung dieses Trennungsverfahrens auf die oben beschriebene Aluminiumbestimmungsmethode sind hauptsächlich zwei Fehlerquellen zu beachten, nämlich 1. der Übergang meßbarer Eisenmengen in das aluminiumhaltige Filtrat, 2. die Adsorption von Aluminium an den Eisenhydroxydniederschlag. Weitere Fehler, die durch den Al-Gehalt der Reagentien sowie durch Auslaugen des Glases entstehen könnten, werden durch passende Aufstellung der Eichkurven ausgeschaltet.

Vollständigkeit der Eisenfällung mit Natronlauge

Es wurden folgende Versuche ausgeführt:

a) In einen Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Glas gab man 1 ml 6 n Salzsäure, 1 ml 1%ige Eisen(III)-chloridlösung und 5 ml 6 n Natronlauge. Nach 30 min langem Stehen auf einem lebhaft siedenden Wasserbad wurde die Lösung mit 20 ml Wasser verdünnt und durch ein 9 cm-Weißbandfilter (Schl. & Sch. 589[2]), das jeweils nur bis zur Hälfte gefüllt wurde, in einen Quarz-Erlenmeyer-Kolben filtriert. Die Fehlerquelle, die durch Kriechen des Niederschlages an der inneren Faltstelle des Filters entstehen kann, wurde wie S. 325 angegeben ausgeschaltet.

b) Man verfuhr wie bei Versuch a, wandte aber statt 5 ml 6 n Natronlauge 5 ml einer 2 n Natronlauge an.

Um bei den Versuchen a) und b) genau dieselben Mengen an Natronlauge und Salzsäure bzw. die gleichen Verunreinigungen dieser Chemikalien an Eisen in diesen Lösungen zu haben, wurden nunmehr zu Versuch a) 7 ml 6 n Salzsäure und 5 ml 2 n Natronlauge und zu Versuch b) 7 ml 6 n Salzsäure und 5 ml 6 n Natronlauge gegeben. Hierauf wurden die Lösungen in 50 ml-Meßkolben gebracht, mit 10 ml 40%iger Kaliumrhodanidlösung versetzt, dann mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und durchgemischt. Die Farbintensität der Lösung wurde in einer 5 cm-Küvette bei 520 mμ gemessen.

Zur Aufstellung der Eichkurven wurden zu 0, 2, 5, 8 und 12 μg Eisen als Eisen(III)-ammoniumsulfat verständlicherweise nur diejenigen Lösungen gegeben, die nach dem Filtrieren der Versuche a) und b) zugefügt wurden, da die Fe-Verunreinigungen der vor dem Filtrieren zugegebenen Lösungen mitausgefällt werden. Zu den Eichlösungen für den Versuch b) wurden daher 7 ml 6 n Salzsäure und 5 ml 6 n Natronlauge gegeben, während zu denjenigen von a) neben 5 ml 2 n Natronlauge nur 4 ml 6 n Salzsäure zugefügt wurden, um dadurch etwa denselben Säuregrad in

der Lösung zu haben. Ein Unterschied bis zu 1 ml 6 n Salzsäure je 50 ml spielt beim Anfärben, wie sich aus Versuchen ergab, keine Rolle. Da nun in der von uns angewandten 6 n Salzsäure in 1 ml 0,3 μg Eisen enthalten war, wurde die restliche bis 7 ml fehlende Menge hiermit multipliziert und die Eichkurve für den Versuch a) entsprechend parallel verschoben.

Ergebnisse. In Versuch a) enthielt das Filtrat 8—9 μg Fe, in Versuch b) 0,8—1,2 μg Fe. Durch steigende NaOH-Konzentration gelangte also mehr Eisen in das Filtrat. Diese Ergebnisse blieben unverändert, wenn das 30 min lange Erhitzen in Quarz oder Platin erfolgte oder wenn man statt zu erhitzen 1 Std bei Zimmertemperatur stehen ließ. Wir vermuteten, daß das im Filtrat gefundene Eisen von sehr feinteiligem Eisenhydroxyd herrühre und gingen deshalb dazu über, an Stelle der Weißbandfilter Filter mit geringerer Porenweite für die Abtrennung zu verwenden.

Tabelle 4. *Eisengehalt im Filtrat des Eisenhydroxydniederschlages*
Fällungsbedingungen wie im Versuch b (S. 326). Filter der Firma Schl. & Sch.

Filtersorte		mittlerer Porendurchmesser μ	Gefunden μg Fe
Schwarzband	589[1]	7,4	0,8 — 1,2
Weißband	589[2]	6,8	0,8 — 1,2
Blauband	589[3]	2,2	0,2 — 0,4
Hartfilter	1507		0 — 0,3

Wie man aus Tab. 4 ersieht, ist das Filtrat bei Anwendung von Hartfiltern tatsächlich eisenfrei oder enthält nur zu vernachlässigende Mengen davon. Bei einem mit stärkerer Natronlauge unter den Bedingungen des Versuches a) (S. 326) ausgeführten Versuch waren allerdings auch bei Verwendung von Hartfiltern noch 7,5 μg Eisen im Filtrat enthalten. Führte man den gleichen Versuch mit den 5- bzw. 10fachen Fe-Mengen aus, so sank der Eisengehalt im Filtrat auf 2 μg Fe bzw. 1 μg Fe. Durch zunehmenden Fe-Gehalt gelangt also weniger Eisen in das Filtrat. Die relativ große Wirkung der Eisenmenge dürfte neben der Verengung der Porenweite des Filters, die durch die größere Niederschlagsmenge hervorgerufen wird, wohl hauptsächlich auf Adsorption des kolloidalen Eisens an Eisen(III)-hydroxyd zurückzuführen sein.

Adsorption des Aluminiums an Eisen(III)-hydroxyd

Man gab in 50 ml-Quarz-Erlenmeyer-Kolben 10, 30, 50, 70, 90 und 110 μg Aluminium (als $KAl(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$), 1 ml 6 n Schwefelsäure und 1 ml 1%ige Eisen-(III)-chloridlösung, verdünnte mit Wasser auf etwa 35 ml, stellt etwa 10 min lang auf ein lebhaft siedendes Wasserbad und fällte das Eisen mit 5 ml 2 n Natronlauge. Nach weiterem 30 min langem Stehen auf dem Wasserbad und darauffolgendem Abkühlen auf Zimmertemperatur filtrierte man die Lösungen durch 9 cm Hartfilter und verfuhr zur Aluminiumbestimmung im Filtrat nach der Arbeitsvorschrift S. 325.

Parallel zum Hauptversuch wurde stets ein Blindversuch ohne Zugabe von 1 ml 1%iger Eisen(III)-chloridlösung, aber sonst vollkommen gleichartig durchgeführt.

Die in Tab. 5 Spalte 2, aufgezeichneten Ergebnisse entsprechen den Mittelwerten von jeweils 6 Parallelbestimmungen. Die wirklich an Eisen(III)-hydroxyd adsorbierte Al-Menge erhöht sich noch um 0,4 μg (Spalte 3), da 1 ml der von uns angewandten 1%igen Eisen(III)-chloridlösung nach den durchgeführten Analysen diese Menge Aluminium enthält.

Tabelle 5. *Adsorption von Aluminium an Eisen(III)-hydroxyd bei Anwendung von 1 ml 1%iger Eisen(III)-chloridlösung*

Angewandt μg Al	Adsorbierte Al-Menge		Angewandt μg Al	Adsorbierte Al-Menge	
	gefunden μg Al	korrigiert μg Al		gefunden μg Al	korrigiert μg Al
10	0,7	1,1	70	2,0	2,4
30	1,0	1,4	90	2,6	3,0
50	1,8	2,2	110	3,0	3,4

Wie man aus Tab. 5 ersehen kann, nimmt die Adsorption des Aluminiums an Eisen(III)-hydroxyd durch steigende Al-Gehalte zu. Ähnliche Ergebnisse wurden auch dann gefunden, wenn man bei Raumtemperatur fällte und 1 Std stehen ließ. Durch größere Eisenmengen wird die Adsorption, wie man aus Tab. 6 ersieht, noch wesentlich erhöht. We den jedoch unter sonst gleichen Bedingungen 5 ml 6 n Natronlauge statt 5 ml 2 n Natronlauge verwandt, wobei zum Ansäuern der alkalischen Lösungen 5 ml 6 n Schwefelsäure zugegeben und die Lösungen zur Aufstellung der Eichkurve entsprechend hergestellt wurden, so ist die Adsorption vor allem bei dem mit 1 ml 1%iger Eisen(III)-chloridlösung durchgeführten Versuch wesentlich geringer. Die in Tab. 6 aufgezeichneten Ergebnisse entsprechen den Mittelwerten von jeweils 6 Parallelbestimmungen.

Tabelle 6. *Adsorption von Aluminium an Eisen(III)-hydroxyd bei steigenden NaOH- bzw. Fe-Konzentrationen*

Angewandt			gefunden	Al-Verunreinigung i. angew. $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$	korrigiert
μg Al	1 ml 6 n H_2SO_4 +	ml 1% ige $FeCl_3 \cdot 6H_2O$-Lösung	μg Al	μg Al	μg Al
100	5 ml 2 n NaOH-Lösung	1	2,7	0,4	3,1
100	„	5	6,0	2,0	8,0
100	„	10	8,5	4,0	12,5
100	5 ml 6 n NaOH-Lösung	1	0,0	0,4	0,4
100	„	5	3,0	2,0	5,0
100	„	10	5,0	4,0	9,0

Die durch die Adsorption von Aluminium am Eisenhydroxydniederschlag entstehenden Fehler können, wie S. 326 angegeben, durch passende Herstellung der Eichkurven ausgeschaltet werden.

Literatur

[1] Abrahamczik, E.: Z. angew. Chem. **55**, 233 (1942). — [2] Attack, F. A.: J. Soc. chem. Ind. **34**, 936 (1915); vgl. diese Z. **58**, 363 (1919). — [3] Lepper, H. A.: Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. S. 97 (1950). — [4] Mussakin, A. P.: diese Z. **105**, 351 (1936). — [5] Oelschläger, W.: diese Z. **154**, 329 (1957). — [6] Sandell, E. B.: Colorimetric Determination of Traces of Metals. S. 126 (1944).

Dr. W. Oelschläger, Institut für Tierernährungslehre an der Landwirtschaftl. Hochschule, Stuttgart-Hohenheim

Aus dem Institut für Tierernährungslehre an der Landw. Hochschule Hohenheim (Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Wöhlbier)

Fehlerquellen bei der mikroanalytischen Aluminiumbestimmung durch Auslaugen von Glas und Verunreinigungen der Chemikalien

Von

W. Oelschläger

(Eingegangen am 7. April 1956)

Bei der Bestimmung größerer Al-Mengen sind die durch Auslaugen von Glas und Verunreinigungen der Chemikalien hervorgerufenen Fehler nahezu ohne Bedeutung. Dagegen können bei der mikroanalytischen Al-Bestimmung bei Nichtbeachtung dieser Punkte beachtliche Al-Gehalte vorgetäuscht werden. In Zusammenhang mit den Versuchen zur Bestimmung kleiner Al-Mengen in biologischem Material[1] stellte ich einschlägige Untersuchungen an, über deren Ergebnisse nachstehend berichtet werden soll. Diese Befunde dürften auch für Mikrobestimmungen gewisser anderer Elemente, sowie für die Herstellung von reinen Metallhydroxyden und Oxydhydraten, die für katalytische Reaktionen viel verwandt werden, von Bedeutung sein.

Auslaugen von Aluminium aus dem Glas

Alle im chemischen Laboratorium gebrauchten Glassorten enthalten Aluminium, z. B. beträgt der Tonerdegehalt von Jenaer Geräteglas 20 etwa 4,5%. Um den Angriff verschiedener Chemikalien auf das Jenaer Glas zu untersuchen, wurden die folgenden Versuche durchgeführt:

In einen etwa 35 ml fassenden Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Glas (G 20) gab man bei Versuch α) 5 ml 2 n- und bei Versuch β) 5 ml 6 n Natronlauge, ergänzte mit Wasser auf 30 ml und stellte jeweils ½- bzw. 1 Std auf ein lebhaft siedendes Wasserbad. Nach vollständigem Abkühlen der Lösungen (1 Std) wurden diese zur Entfernung des in der Natronlauge enthaltenen und während des Erhitzens ausgelaugten

Eisens durch Hartfilter (Schl. & Sch. 1507) filtriert[1]. Eine quantitative Entfernung dieses Metalls ist nötig, weil es ebenfalls mit den zur Al-Bestimmung angewandten Reagentien gefärbte Adsorptionsverbindungen ergibt, wobei durch 10 μg Eisen bei Anwendung von Alizarin S[1] 6,4 μg Aluminium vorgetäuscht werden. Dann gab man zu den Filtraten des Versuchs α) 2 ml und zu denen von β) 6 ml 6 n Schwefelsäure und verfuhr zur Aluminiumbestimmung nach der früher gegebenen Arbeitsvorschrift[1]. Die zur Aufstellung der Eichkurven benötigten Lösungen wurden genau gleich hergestellt, wobei jedoch die Lösungen nicht erhitzt und Quarz-Erlenmeyer-Kolben an Stelle der Glasgefäße verwendet wurden.

Ähnliche Versuche führte man auch mit Ammoniak durch, wobei aber die Lösungen nach dem Erhitzen deshalb nicht filtriert wurden, weil in ammoniakalischer Lösung Aluminium als Hydroxyd ausfällt. Auch hier wurde der durch Verunreinigung des Ammoniaks mit Aluminium und Eisen entstehende Fehler dadurch ausgeglichen, daß die Lösungen zur Herstellung der Eichkurve ohne Erhitzen und bei Verwendung von Quarz-Erlenmeyer-Kolben genau gleich hergestellt wurden. Während jedoch bei den Versuchen mit Natronlauge die im Verlaufe des Erhitzens ausgelaugte Fe-Menge durch Filtrieren entfernt wurde, war dies bei den mit Ammoniak durchgeführten Versuchen nicht der Fall. Der hierdurch hervorgerufene Fehler ist jedoch gering, da nur wenig Eisen in die ammoniakalische Lösung übergeht (siehe Tab. 1). Die Eisenbestimmung erfolgte in allen Lösungen colorimetrisch nach dem Rhodanidverfahren[1]. Tab. 1 enthält die Ergebnisse der verschiedenen Versuche. Die Zahlen sind Mittelwerte aus jeweils 4 Bestimmungen.

Tabelle 1. *Auslaugung von Aluminium und Eisen aus Jenaer Glas (G20) bei Anwendung von 30 ml 0.3 n- und 0.9 n Natronlauge bzw. Ammoniaklösungen nach verschiedener Erhitzungsdauer und darauf folgendem 1stündigem Stehen bis zum Erkalten auf Zimmertemperatur*

Angewandt	Konzentration der Lösungen an Alkali	Erhitzungsdauer, min	Ausgelaugt	
			μg Al	μg Fe
Natronlauge	0,3 n	30	38	3,2
„	0,3 n	60	81	7,0
Natronlauge	0,9 n	30	53	4,2
„	0,9 n	60	125	Lösung trübe (H_2SiO_3)
Ammoniak	0,3 n	30	7	0,3
„	0,3 n	60	13	0,6
Ammoniak	0,9 n	30	11	0,7
„	0,9 n	60	16	1,3

Wie man aus Tab. 1 ersieht, werden durch heiße und relativ schwache Natronlauge sehr beachtliche, mit der Angriffsdauer zunehmende Al-Mengen aus Jenaer Glas gelöst. Dagegen greift Ammoniak Jenaer Glas wesentlich weniger an und der Angriff nimmt mit der Zeit weniger stark zu als bei Natronlauge. Das dürfte auf teilweise Verflüchtigung des Ammoniaks während des Erhitzens zurückzuführen sein.

Weitere Versuche beziehen sich auf den Angriff von Jenaer Glas durch Wasser und Mineralsäuren. Durch Wasser wird selbst nach 1 Std langem Erhitzen kein Aluminium aus dem Glas gelöst (Tab. 2).

Bei den Versuchen mit verdünnten Säuren überspülte man die Lösungen nach dem Erhitzen und Abkühlen in Quarz-Erlenmeyer-Kolben und fällte Eisen, das hauptsächlich aus Verunreinigungen der Säuren stammte, mit 2 ml 6 n- bzw. 6 ml 6 n Natronlauge, wie oben beschrieben, aus. Nach dem Filtrieren wurden die Filtrate mit 0,8 ml 6 n- bzw. 1,5 ml 6 n Schwefelsäure angesäuert und wie bei den Versuchen (S. 329) beschrieben weiterbehandelt. Die zur Aufstellung der Eichkurven benötigten Lösungen wurden wiederum ohne Erhitzen und bei Anwendung von Quarz-Erlenmeyer-Kolben genau gleich hergestellt.

Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 2 zusammengestellt. Man erkennt, daß die verdünnten Säuren nur sehr wenig Aluminium aus dem Glas herauslösen.

Tabelle 2. *Auslaugung von Aluminium aus Jenaer Glas (G 20) bei Anwendung von 30 ml Wasser und 0,3 n- bzw. 0,9 n Salz- und Schwefelsäure nach verschiedener Erhitzungsdauer und darauf folgendem 1 stündigem Stehen bis zum Erkalten auf Zimmertemperatur*

Angewandt	Konzentration der Lösungen	Erhitzungsdauer, min	Ausgelaugt µg Al
Wasser		30	0
,,		60	0
Salzsäure	0,3 n	30	0,3
,,	0,3 n	60	0,6
,,	0,9 n	30	0,5
,,	0,9 n	60	0,9
Schwefelsäure	0,3 n	30	0,3
,,	0,3 n	60	0,5
,,	0,9 n	30	0,5
,,	0,9 n	60	0,8

Für den Aufschluß biologischer Substanzen wird neben der trockenen Veraschung hin und wieder eine nasse Veraschung in Kjeldahl-Kolben empfohlen. Durch die folgenden Versuche sollte geprüft werden, wieviel Aluminium durch konz. Säuren aus Jenaer Glas gelöst wird.

Jeweils 30 ml der konz. Säuren wurden in Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Glas G 20 (etwa 35 ml Inhalt) gebracht, mit Uhrgläsern bedeckt und 1 Std auf einem lebhaft siedenden Wasserbad stehengelassen. Nach sofortigem Überspülen in Platinschalen wurden diese Flüssigkeiten bis zur Trockne eingedampft. Die Rückstände nahm man mit 1 ml 6 n Schwefelsäure und einigen Millilitern Wasser unter Erwärmen auf dem siedenden Wasserbad auf, überspülte in Quarz-Erlenmeyer-Kolben und verfuhr weiter wie (S. 330) beschrieben.

Wie aus Tab. 3 (S. 332) ersichtlich, sind die durch konz. Salpeter- und Salzsäure aus Jenaer Glas gelösten Al-Mengen relativ gering. Der bei dem Versuch mit konz. Schwefelsäure gefundene Minusgehalt dürfte auf eine geringe Verunreinigung dieser Säure mit Fluorid zurückzuführen sein.

Zur Bestimmung der störenden Wirkung des Fluorids auf den Al-Alizarinfarblack wurden zu 100 µg Aluminium 5, 10, 20 und 30 µg Fluorid zugegeben, dann wurde der Al-Gehalt bestimmt. Dabei wurden an Stelle von 100 µg Al nur noch 98 µg, bzw. 96 µg, bzw. 92 µg, bzw. 89 µg Al gefunden.

In einigen Versuchen bestimmten wir auch die Mengen Aluminium, die durch längeres Stehen verschiedener Säuren und Laugen bei Zimmertemperatur aus Jenaer Glas gelöst werden. Die Versuche wurden im übrigen ebenso durchgeführt wie die bisher beschriebenen Versuche.

Tabelle 3. *Auslaugung von Aluminium aus Jenaer Glas (G20) bei Anwendung von 30 ml verschiedener konzentrierter Säuren nach 1stündigem Erhitzen auf einem lebhaft siedenden Wasserbad*

Angewandt	Ausgelaugt µg Al
Schwefelsäure	—4,5
Salpetersäure	2,2
Salzsäure	5,5

Wie man aus Tab. 4 entnimmt, wird Jenaer Glas bei Raumtemperatur durch die Chemikalien verhältnismäßig wenig angegriffen.

Tabelle 4. *Auslaugung von Aluminium aus Jenaer Glas (G20) bei Anwendung von 30 ml 0.3 n Laugen und Säuren nach mehrtägigem Stehen bei Zimmertemperatur*

Angewandt	Einwirkungsdauer, Tage	Ausgelaugt µg Al
Natronlauge	4	8,5
Ammoniak	4	2,0
Schwefelsäure	4½	0
Salzsäure	4½	0,8

Fehlerquellen durch Verunreinigungen der Chemikalien

In den in Tab. 5 aufgezeichneten, pro analysi-Reagentien wurden die Al- und Fe-Gehalte wie folgt bestimmt:

Tabelle 5. *Aluminium- und Eisengehalte in einigen pro analysi-Chemikalien*

Chemikalien	In 100 g wurden gefunden µg Al	µg Fe
destilliertes Wasser	2	2
konz. Salzsäure	250	61
konz. Salpetersäure	36	28
konz. Schwefelsäure	29	59
40%ige Flußsäure	100	83
konz. Ammoniak	83	130
Natriumacetat	140	210
Natriumhydroxyd	1400	230
Eisen(III)-chlorid ($FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$)	4000	

Von dem destillierten Wasser wurde 1 l, von den Säuren und Ammoniak wurden jeweils 20 ml in Platinschalen abgedampft (bei dem Versuch mit Flußsäure unter Zusatz weniger Tropfen konz. Schwefelsäure). Zur Bestimmung des Al-Gehaltes in Eisen(III)-chlorid versetzte man 5 ml 5%ige Lösung mit 5 ml konz. Salzsäure und schüttelte so oft mit jeweils etwa 15 ml Äther aus, bis dieser farblos blieb (etwa 4 mal je 1—2 min). Dabei geht kein Aluminium in den Ätherextrakt. Hierauf wurden die salzsauren Lösungen in Platinschalen abgelassen und bis zur Trockne eingedampft. Bei der Al-Bestimmung in Natriumacetat wurde dieses Salz zunächst durch Abdampfen mit überschüssiger konz. Salzsäure in Chlorid übergeführt, da bei der Neutralisation mit Alizarin S Acetatgehalte den Farbumschlag undeutlich machen. Die Abdampfrückstände wurden in allen Fällen zu Fe- und Al-Bestimmung, wie (S. 329) beschrieben, weiterbehandelt. — Bei der Untersuchung von Natriumhydroxyd (5 ml 6 n Natronlauge) erübrigt sich das Eindampfen.

Wie man aus Tab. 5 ersieht, können bei der mikroanalytischen Al-Bestimmung beachtliche Fehler auftreten, wenn man die Al- und Fe-Verunreinigungen in den benutzten Chemikalien nicht berücksichtigt. Die in den Chemikalien gefundenen Verunreinigungen sind verständlicherweise unmittelbar nach Fertigstellung durch den Hersteller geringer als hier gefunden. Sie nehmen jedoch bei Lagerung bzw. Aufbewahrung der hygroskopischen Chemikalien und Flüssigkeiten in Glasgeräten zu.

Literatur

[1] OELSCHLÄGER, W.: diese Z. 154, 321 (1957).

Dr. W. OELSCHLÄGER, Institut für Tierernährungslehre an der Landwirtschaftl. Hochschule, Stuttgart-Hohenheim

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere, München
(Direktor: Prof. Dr. Dr. JOHANNES BRÜGGEMANN), Chemisches Laboratorium

Kritische Bemerkungen zur colorimetrischen Bestimmung organischer Substanzen vermittels polarisierter Zustände insbesondere im biologischen Material. II*

Von

WALTHER KRAUSS, HORST CASPERS und FRIEDRICH KÄSBAUER

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. September 1956)

In einer früheren Arbeit[6] wurden einige prinzipielle Bemerkungen zu colorimetrischen Verfahren gemacht, die vornehmlich durch elektrophile Substanzen erzeugte polarisierte Molekülzustände als Test — insbesondere für Wirkstoffe — verwenden. Hierbei wurden auch einige verfahrenstechnische Vorschläge angegeben zur einigermaßen sicheren Erfassung sehr kleiner Mengen an Wirkstoffen.

Wir müssen nun gerade im Zusammenhang mit der üblichen CARR-PRICE-*Reaktion* auf *Vitamin A* auf eine weitere Tatsache hinweisen, deren Nichtbeachtung zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann, ohne daß man zunächst nach den bisher in der Literatur bekannten zahlreichen Vorschriften[3] entscheiden kann, ob eine Abweichung vorliegt oder nicht. So wie z. B. das CARR-PRICE-Verfahren bisher angewendet wird, kann man nicht sagen, an welcher Stelle der Gleichgewichtskurve des Komplexes man arbeitet. Dies gilt prinzipiell auch für alle anderen Verfahren,

* I. Mitteilung: W. KRAUSS und H. GRUND[6].

bei denen elektrophile Stoffe als Reagens angewendet werden. Es wird immer stillschweigend angenommen, daß die benutzte Reagenskonzentration so groß ist, daß das Gleichgewicht vollkommen auf die Seite des zur Messung herangezogenen polarisierten Komplexes verschoben ist. Diese Voraussetzung ist aber nicht immer erfüllt.

Wir haben in den letzten Jahren im Zusammenhang mit optischen und kinetischen Untersuchungen derartige Gleichgewichte vermessen und gefunden, daß die Gleichgewichtskonstante des Donator-Acceptorkomplexes immerhin so liegt, daß sie einen Einfluß auf das Ergebnis nehmen kann. Mit anderen Worten besagt dies, daß nicht in allen Fällen das Gleichgewicht vollkommen auf die Seite der Komplexbildung verschoben ist.

Ganz allgemein gilt für das Gleichgewicht zwischen Elektronendonator D (z. B. Vitamin A) und dem elektrophilen Acceptor A (z. B. MeX_n bzw. $R^+MeX_{n+1}^-$) die Bildungsgleichung:

$$D + A \rightleftharpoons D^+A^- .$$

D^+A^- ist der polarisierte Komplex, der die langwellige Bandenverschiebung von D ergibt. Es gilt nun:

$$\frac{(D^+A^-)}{(D)(A)} = K_B \quad \text{und} \quad \frac{(D^+A^-)}{(D)} = K_B \cdot (A)^* . \tag{1}$$

In den Gleichungen gelten folgende Bezeichnungen:

(D) = Donatorkonzentration im Gleichgewicht,
(D_a) = Donatorkonzentration angewandt,
(D_{am}) = angewandte Donatorkonzentration bei der Messung.
(D_{aE}) = angewandte Donatorkonzentration bei der Eichung.

Für den Acceptor (A) gelten die sinngemäßen Formelzeichen.

Für (D) kann man schreiben:

$$(D) = (D_a) - (D^+A^-)$$

und somit wird

$$K_B(A) = \frac{1}{(D_a)/(D^+A^-) - 1} \tag{2}$$

bzw.

$$(D_a) = \left[\frac{1}{K_B \cdot (A)} + 1\right](D^+A^-). \tag{3}$$

Die Konzentration (D^+A^-) ist gegeben durch die gemessene Extinktion $E_{1\,cm}$ und den molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten ε der langwelligen Hauptbande für λ_{max}.

* Es wird hierbei angenommen, daß der Komplex aus einem Donator- und einem Acceptormolekül besteht. Dies ist zumeist der Fall. Bei $SnCl_4$ z. B. kann jedoch ein zwei-Donator-eins-Acceptor-Komplex auftreten. Dann wird in den Gleichungen statt (D) bzw. D^+A^- gesetzt: $(D)^2$ bzw. $D_2^{++}A^{--}$.

Es gilt dann:

$$(D^{+}A^{-}) = E_{1\,\mathrm{cm}}/\varepsilon$$

und somit

$$(D_a) = (E_{1\,\mathrm{cm}}/\varepsilon) \cdot [1 + 1/K_B(A)]\,. \tag{4}$$

Setzt man nun noch für K_B die übliche Dissoziationskonstante nach

$$K_B = 1/K_D\,,$$

so wird endgültig:

$$(D_a) = (E_{1\,\mathrm{cm}}/\varepsilon) \cdot [1 + K_D/(A)]\,. \tag{5}$$

Bei den Verfahren, wie sie üblicherweise angewendet werden, ist $(D_a) \ll (A_a)$, wo (A_a) die angewendete Acceptorkonzentration ist. Daher wird (A) von der Konzentration an (D_a) in erster Näherung unabhängig und jeweils konstant. Man kann daher in Gl. (5) (A) durch (A_a) ersetzen.

Für $K_D/(A_a) = \mathrm{const.}$, das ja für eine gegebene Reaktion nur von (A_a) abhängig ist, ergibt sich daher mit Gl. (5) eine gerade Linie für verschiedenes (D_a). Für $(D^{+}A^{-})$ steht $E_{1\,\mathrm{cm}}/\varepsilon$ und da $\varepsilon = \mathrm{const.}$ und nur von der Natur $D^{+}A^{-}$ abhängig ist, gilt bei konstanten Verhältnissen des Lösungsmittels:

$$(D_a) \cdot \varepsilon/[1 + K_D/(A_a)] = E_{1\,\mathrm{cm}}\,.$$

Diese Funktion ist die übliche Eichkurve, sie ist ganz allgemein unabhängig von K_D, A_a und D_a, wenn nur $(D_a) \ll (A_a)$ und $(A_a) \gg K_D$ ist. Die erste Bedingung ist im allgemeinen bei den Verfahren, die die langwellige Hauptabsorptionsbande des Komplexes (π-π^{*}-Übergang) benutzen, erfüllt. In einer 1 cm-Küvette sind im günstigsten Meßbereich ($E_{1\,\mathrm{cm}} = 0{,}1$—$0{,}6$) nur Konzentrationen D_a: 10^{-6}—10^{-5} Mol/Liter zu erfassen. Deshalb ist auch die Gültigkeit des Lambert-Beerschen-Gesetzes in bezug auf D_a bei gegebener Reagenskonzentration kein Hinweis, daß ein Donator-Acceptor-Gleichgewicht nicht vorliegt.

Die zweite Bedingung $(K_D/(A_a) \to 0)$ braucht jedoch nicht ohne weiteres erfüllt zu sein. Ob man mit ihr rechnen kann, setzt die Kenntnis von K_D voraus, über das bisher keine Messungen vorlagen.

Die allgemeine Auswertung der Gl. (5) für verschiedene $K_D/(A_a)$ bei konstantem K_D und verschiedenen (D_a) gibt die Abb. 1. Das gleiche gilt übrigens auch, wenn man (A_a) konstant hält und K_D variiert.

Für die Abweichung der Meßwerte bei variablem A_{am} und konstantem K_D ergibt sich unter Bezug auf die mit $K_D/(A_{aE})$ ermittelte Eichkurve folgende Beziehung:

$$\frac{(D_{am})}{1 + K_D/x \cdot (A_{aE})} = E_{1\,\mathrm{cm,\,m}},\ \text{wo}\ E_{1\,\mathrm{cm,\,m}}$$

die gemessene Extinktion und $(A_{am}) = x\,(A_{aE})$ ist. Für die Eichkurve

selbst ist:

$$\frac{(D_{a\,E})}{1 + K_D/(A_{a\,E})} = E_{1\,\mathrm{cm},\,E}$$

Da in die Eichkurve eingegangen wird, ist definitionsgemäß:

$$E_{1\,\mathrm{cm},\,m} = E_{1\,\mathrm{cm},\,E}$$

und somit

$$\frac{(D_{a,\,m})}{1 + K_D/x(A_{a,\,E})} = \frac{(D_{a,\,E})}{1 + K_D/(A_{a,\,E})}.$$

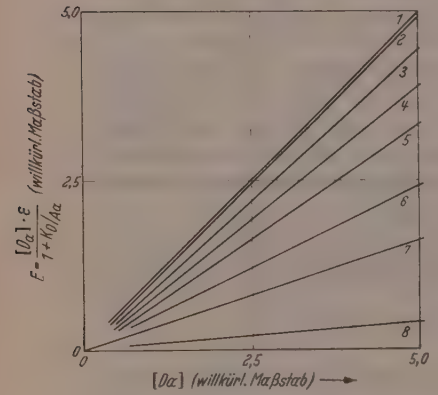


Abb. 1

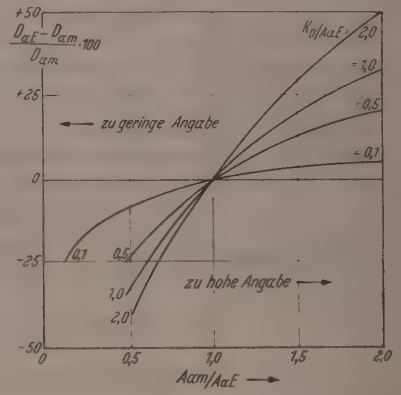


Abb. 2

Abb. 1. Eichkurven für verschiedene $K_D\,A_a$. $K_4\,A_a$: $1 = 0$; $2 = 0{,}01$; $3 = 0{,}1$; $4 = 0{,}25$; $5 = 0{,}5$; $6 = 1{,}0$; $7 = 2{,}0$; $8 = 10$. K_D = const.; $(D_a) \ll (A_a)$

Abb. 2. Fehlweisungen für $A_{a,\,m} \neq A_{a,\,E}$

Hieraus folgt:

$$\frac{(D_{a,\,E})}{(D_{a,\,m})} = \frac{x\,[(A_{a,\,E}) + K_D]}{x\,(A_{a,\,E}) + K_D}$$

Die Fehlweisung für $(A_{a,\,m}) \neq (A_{a,\,E})$ ist dann:

$$\frac{(D_{a,\,E}) - (D_{a,\,m})}{(D_{a,\,m})} = z - 1, \text{ wo } z = \frac{x\,[(A_{a,\,E}) + K_D]}{x\,(A_{a,\,E}) + K_D} \qquad (6)$$

$(z - 1) \cdot 100$ ist somit die prozentische Abweichung des Ergebnisses von der tatsächlich vorhandenen Menge des Donators. In der Abb. 2 sind diese Abweichungen für verschiedene Werte $K_D/(A_{a\,E})$ und $(A_{a,\,m})/(A_{a,\,E})$ eingetragen. Nehmen wir ein gegebenes Donator-Acceptorsystem, so ist K_D = const. Es ist $K_D/(A_{a,\,E})$ für die Annahme daß $(A_{a,\,m})$ verschieden sei, jeweils als konstant angegeben. Die Ordinate der Darstellung ist die prozentische Abweichung. Man hat nun, um die Fehlweisung zu ermitteln nur K_D, $(A_{a,\,m})$ und $(A_{a,\,E})$ zu kennen und erhält aus den Kurven direkt die Abweichung. Die Darstellung gilt prinzipiell und ist zunächst nicht an irgendwelche Absolutwerte geknüpft.

Sie zeigt, daß kein Fehler vorhanden ist für $(A_{a,m}) = (A_{a,E})$. Wird $(A_{a,m}) > (A_{a,E})$ so zeigt das Ergebnis einen zu hohen Wert, und umgekehrt.

Um sich ein Bild zu machen, welchen Einfluß die Dissoziationskonstanten des Acceptor-Donatorgleichgewichtes haben können, bzw. welche Reagenskonzentrationen man anwenden muß, um einigermaßen befriedigende Werte zu erhalten, bringen wir in der Tab. 1 einige Disso-

Tabelle 1

		p_{K_D}			
	n	H_2SO_4*	$ZnCl_2$–CH_3CO^+	$SbCl_5$–CH_3CO^+	$SbCl_5$
Phenyl-$\left(\underset{C}{H}=\underset{C}{H}\right)_n$—CO-Phenyl	1	— 4,2[1]	+ 2,8	+ 3,0	
	2	— 3,4[1]	+ 3,75	+ 3,5	
	3	— 3,1[1]	+ 3,9		
	4	— 2,9[1]	+ 4,2	+ 4,0	+ 3,0
Phenyl-$\left(\underset{C}{H}=\underset{C}{H}\right)_n$—CO—$CH_3$	2			+ 3,5	
	4				+ 3,25
Phenyl-$\left(\underset{C}{H}=\underset{C}{H}\right)_n$—CHO	2	— 4,2[1]			
	3	— 3,5[1]	+ 3,65		
	4	— 3,1[1]	+ 3,70		
	5	— 3,0[1]	+ 3,80	+ 3,6	+ 2,75
	6	— 2,8[1]			
Phenyl-$\left(\underset{C}{H}=\underset{C}{H}\right)_n$-Phenyl	6			+ 3,0	+ 2,0
Triphenylcarbinol		— 3,0	+ 3,6	+ 4,35	
Vitamin-A-Alkohol	5	— 2,8		+ 4,45	+ 3,75

* Messungen in Eisessig, die anderen in $CHCl_3$.

[1] Thomas und Branch[8].

K_D in Mol/Liter. $p_{K_D} = -\lg K_D$. Temp.: 22° C. Genauigkeit $\pm 0{,}3$ p_K-Einheiten, $CH_3COCl \sim 5 \cdot 10^{-1}$ Mol/l.

ziationskonstanten solcher Komplexe in $CHCL_3$ (DK. 5,1). Es werden für eine Reihe charakteristischer Systeme (Carbonylgruppe in Aldehyd und Keton, ferner für -OH in Alkoholen und für Polyen) die von uns vermessenen Dissoziationskonstanten angegeben. Gleichzeitig werden einige elektrophile Acceptorsubstanzen verwendet. Aus ihnen kann man sich weitgehend für jedes System, das zur Verwendung gelangen soll, die Konstante abschätzen. Über die allgemeinen Gesetzmäßigkeiten selbst werden wir in Kürze an anderer Stelle[5] eingehend berichten. In Lösungsmitteln mit einer $DK < 5$ liegen die Verhältnisse etwas komplizierter. In solchen mit einer $DK > 5$ sind die p_{KD}-Werte etwas kleiner.

Es sei noch hinzugefügt, daß $(A_{a,m})$ und $(A_{a,E}) \geqslant 10 \cdot K_D$ sein müssen, um befriedigende Werte zu erhalten.

Im Falle der Vitamin A-Bestimmung mit $SbCl_5$ ($SbCl_3$-Reagens nach Carr-Price[2]) liegen die Verhältnisse nun besonders schwierig, weil das im $SbCl_3$ enthaltene $SbCl_5$, das allein die Reaktion eingeht, nur in geringer und noch dazu schwankender Menge vorhanden ist, so daß die vorherigen Darstellungen sehr beachtet werden müssen. Wir wollen daher beispielsweise diesen Fall besonders und eingehend betrachten.

1. Carr-Price-*Reagens*. ($\sim$ 22 g $SbCl_3$ in 100 ml $CHCl_3$. Molare Konzentration $SbCl_3$ $\sim$ 1 Mol/l). Die Konzentration eines solchen Reagenses an $SbCl_5$ schwankt nach unseren bisherigen Messungen zwischen $4 \cdot 10^{-4}$ und $3 \cdot 10^{-3}$ Mol/l. Brüggemann, Krauss und Tiews[1] hatten früher für ein Reagens $7{,}5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l angegeben. Wir rechnen daher im folgenden für die beiden Grenzen $4 \cdot 10^{-4}$ und $3 \cdot 10^{-5}$ Mol/l $SbCl_5$ im Reagens selbst. Weiterhin nehmen wir an, daß 4 ml Reagens zu einem Milliliter der Vitamin A-Lösung gegeben werden, d. h. in der Reaktionslösung in der Küvette haben wir $3{,}2 \cdot 10^{-4}$ bzw. $2{,}4 \cdot 10^{-3}$ Mole $SbCl_5$ je Liter. Die Gleichgewichtskonstante in reinem Chloroform mit $SbCl_5$ ist: $K_D = 1{,}8 \cdot 10^{-4}$ Mol/l. Für die Eichkurve wollen wir annehmen, daß die $SbCl_5$-Konzentration in der Küvettenlösung $1 \cdot 10^{-3}$ Mole ist, $K_D/(A_{a,E}) = 0{,}2$.

In Tab. 2 sind die Bezugswerte und die Fehlweisung $(z - 1) \cdot 100$ angegeben.

Tabelle 2

$(A_{a,m})$ Mol/l	$(A_{a,m})/(A_{a,E})$	$(z-1) \cdot 100$ %
$3{,}2 \cdot 10^{-4}$	0,32	— 14
$2{,}4 \cdot 10^{-3}$	2,40	+ 15

In der folgenden Tab. 3 ist ein Versuch, bei dem für verschiedene Konzentrationen an $SbCl_5$ die Funktion $E = f(D_a)$ ermittelt wurde, angegeben. Es ist hier allerdings als Lösungsmittel Methylenchlorid ($DK = 9$) verwendet, in dem K_D $7{,}8 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter und $K_D/A_{a,E} = 1{,}0$ ist.

Tabelle 3

$SbCl_5$ Mol $\cdot 10^{-4}$/l	$A_{a,m}/A_{a,E}$	$D_a = 6{,}0 \cdot 10^{-6}$ Mol/l $E_{1\text{ cm }620\text{ nm}}$	$D_a = 3{,}0 \cdot 10^{-6}$ Mol/l $E_{1\text{ cm }620\text{ nm}}$	$(Z-1) \cdot 100$ % exp.	$(Z-1) \cdot 100$ % berechnet: Gl. 6
15	1,93	0,650	0,330	+ 33	+ 32
7,8	1,00	0,500	0,250	± 0,0	± 0,00
3,9	0,50	0,360	0,180	— 28	— 34

Bei der Auswertung ist angenommen, daß $(A_{a,E}) = 7{,}8 \cdot 10^{-4}$ Mol/l die Eichlösung mit $SbCl_5$ ist. Auf diese Weise ergeben sich als Abweichung die Werte der letzten Spalte. Sie Übereinstimmung ist befriedigend. Die größeren Werte sind durch die gegenüber Chloroform vergrößerte Dissoziationskonstante bedingt.

Daher ist nun auch zu verstehen, daß man oft bei der Carr-Price-Reaktion das Volumenverhältnis Reagens : Vitamin A-Lösung $\sim$ 10 : 1 gewählt hat. Man erreicht derart wohl unbewußt, daß $(A_{a,m}$ und$)$ $(A_{a,E}) > 10 \cdot K_D$ sind.

2. Carr-Price-*Reagens wie unter 1., jedoch mit 2 Vol-%* $CH_3COCl \sim 2{,}5 \cdot 10^{-1}$ Mol/l. Wie aus Tab. 1 hervorgeht, liegt die Dissoziationskonstante bei Zusatz von CH_3COCl zum Reagens wesentlich günstiger: $K_D = 3{,}5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l. Die Erscheinung, daß der Kokatalysator (hier CH_3COCl) das Gleichgewicht zur Bildung

verschiebt, scheint nach den bisherigen Versuchen allgemein zu gelten. Dies ist in Übereinstimmung mit Angaben von KLAGES[4], der zeigen konnte, daß H-Ätherate und Oxoverbindungen des $SbCl_5$ weniger stabil sind, als die von $H^+ SbCl_5^-$.

Für $K_D/(A_{a,E})$ ergibt sich jetzt 0.03. Hiermit erhält man die Werte der Tab. 4.

Tabelle 4

$(A_{a,m})$ Mol/l	$(A_{a,m})/(A_{a,E})$	$(z-1)\cdot 100$ %
$3{,}2 \cdot 10^{-4}$	0,32	−3
$2{,}4 \cdot 10^{-3}$	2,4	+3

Die Fehlweisungen können unter Eingehen in die entsprechende $K_D/(A_{a,E})$-Kurve der Abb. 2 (S. 336) ermittelt werden.

Für das in Frage stehende CARR-PRICE-Reagens ohne CH_3COCl ergibt sich demnach tatsächlich eine beträchtliche Fehlermöglichkeit, die nicht von vornherein anzugeben ist. Trotz aller so zahlreicher Angaben über dieses Verfahren ist man bisher überhaupt nicht in der Lage, die Fehlweisung zu erkennen oder abzuschätzen. Für das mit CH_3COCl versetzte Reagens liegen die Werte günstiger, jedoch sind auch hier noch Fehler durchaus möglich, wenn die Reagenskonzentration der Eichkurve von derjenigen der Meßkurve wesentlich abweicht.

Man kann zur Behebung dieser Fehlermöglichkeit daran denken, einen geringen Zusatz von $SbCl_5$ zum Reagens zu geben, so daß die Eigenkonzentration des Reagenses an $SbCl_5$ und deren Schwankungen keinen Effekt mehr ausüben können. Wir haben bei unseren Messungen stets $\sim$ 0,2 ml $SbCl_5$ zu 100 ml $SbCl_3$-Lösung der vorgenannten Konzentration gegeben ($SbCl_5 \sim 1{,}6 \cdot 10^{-2}$ Mol/l). Wir möchten allerdings bemerken, daß wegen des Gleichgewichtes $SbCl_5 \rightleftharpoons SbCl_3 + Cl_2$ stets $SbCl_3$ als Stabilisator für $SbCl_5$ in der Lösung vorhanden sein soll. Wir greifen somit die Vorschrift von NOTEVARP und WEEDON[7] auf, die schon früher zur „Verbesserung" ihres CARR-PRICE-Reagenses $SbCl_5$ zusetzten. Ein solches Reagens muß aber wenigstens jeden zweiten Tag neu hergestellt werden.

Man kann natürlich auch einen zweiten Weg gehen. Es wird bei jeder Meßreihe prinzipiell eine Blindprobe mit bekannter Konzentration an Donator (hier Vitamin A) mitgeführt. Hierdurch kann die Eichkurve jeweils korrigiert werden, indem man als neue Eichkurve die Gerade verwendet, die durch den Nullpunkt und den mit der Blindlösung gefundenen Extinktionswert gelegt werden kann.

Was hier für das Vitamin A an einigen Beispielen ausgeführt wurde, gilt prinzipiell für alle Methoden, die mit elektrophilen, aber auch nucleophilen Acceptoren arbeiten. Wir wollen daher nicht noch weitere Verfahren untersuchen. Mit dieser Berücksichtigung des Donator-Acceptorgleichgewichtes im Zusammenhang mit den früheren Ausführungen von KRAUSS und GRUND[6] sowie den verfahrenstechnischen Angaben von

Brüggemann, Krauss und Tiews[1] dürfte nunmehr alles über die allgemeine Methodik derartiger Verfahren gesagt sein.

Wir möchten auch noch bemerken, daß man gegebenenfalls die Temperatur beachten muß, da die Bildungswärme derartiger Komplexe $\Delta H \sim -7{,}5$ kcal/Mol ist. Die Dissoziationskonstante ändert sich daher um $6^0{}_0$ je Grad. Wenn dies auch gering ist, so sollte man doch, namentlich wenn größere Temperaturunterschiede bei verschiedenen Meßreihen sind, die Meßtemperatur immer angeben, da dann unter Umständen die Unterschiede auskompensiert werden können.

Berücksichtigt man alle von uns im Laufe unserer Untersuchungen mitgeteilten Umstände, so wird man einigermaßen fehlerfreie Messungen vornehmen können. Ob allerdings diese Verfahren dann noch wirklich als Routineanalysen durchzuführen sind, mag dahingestellt bleiben, denn sie setzen doch eine beträchtliche Erfahrung gerade auf diesem Gebiete voraus. Außerdem bleiben selbstverständlich auch dann die Methoden unspezifisch.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft haben wir für eine Sachbeihilfe zu danken.

Literatur

[1] Brüggemann, J., W. Krauss und J. Tiews: diese Z. **137**, 421 (1952/53). [2] Carr, F. H., and E. A. Price: Biochemic. J. **20**, 497 (1926). — [3] Gstirner, F.: Chem. Physikal. Vitaminbestimmungsmethoden. Stuttgart 1950. — [4] Klages, F., u. H. Meuresch: Chem. Ber. **85**, 863 (1952); vgl. auch Mühlbauer, E.: Dipl. Arb. München 1956. — [5] Krauss, W., H. Caspers und F. Käsbauer: erscheint in Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem. [6] Krauss, W., u. H. Grund: diese Z. **142**, 173 (1954). — [7] Notevarp, O., and H. W. Weedon: Biochemic. J. **32**, 1054 (1938). — [8] Thomas, I., and G. Branch: J. Amer. chem. Soc. **73**, 4793 (1953).

Privatdozent Dr. phil. habil. W. Krauss, München 22, Veterinärstr. 13

Chemical Laboratories, The University of Allahabad, Allahabad (India)

Cerate-Chromate Oxidimetry

Part I

Oxidation of Carbohydrates

By

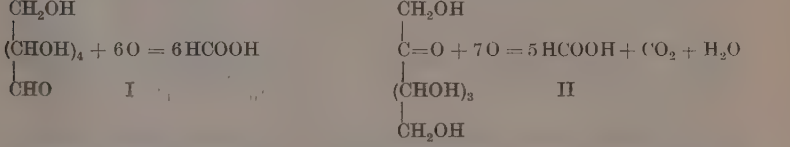
N. N. Sharma

(Eingegangen am 2. Oktober 1956)

Oxidation of organic compounds is often quite empirical and specific and depends upon the oxidising agent employed. Volumetric procedures for determination of organic compounds generally depend on the quantitative oxidation of the organic material to a definite state of oxidation

under specified conditions. The oxidising agents most commonly employed for this purpose have been chromic and permanganic acids and more recently, sulphato-cerate solutions. The advantages of the last reagent over the first two have been emphasized by a number of earlier workers[1, 5, 6]. In the experience of the author[3], the stability of sulphato-cerate solutions even when subjected to prolonged boiling is a decided advantage. In two earlier publications[2, 4], it has been shown that sulphato-cerate solution in presence of dilute sulphuric acid oxidises various organic compounds to formic acid stage only. However, it has been later shown that formic acid itself can be oxidised by refluxing with ceric sulphate solution in the presence of chromium ion and concentrated sulphuric acid. Preliminary work indicates that the chromium ions are initially oxidised to chromate ions which in their turn oxidise the formic acid. Thus, this new reagent embodies the oxidising power of both cerato-sulphate as well as chromate solutions and like pure sulphato-cerate solution, it depicts a remarkable stability even on prolonged boiling.

In an earlier publication[2], it has been shown that glucose, fructose, lactose, sucrose, and xylose when treated with ceric sulphate are oxidised to formic acid. The aldehydic sugars are oxidised to formic acid only whereas ketonic sugars are oxidised to formic acid and carbon dioxide, the ketonic group in these cases being oxidised to carbon dioxide:



In the present investigation it has been shown that oxidation of all the above sugars can further be completed to carbon dioxide and water by the use of this new oxidising agent, activated by the presence of concentrated sulphuric acid. Measured volumes of sugar solutions were mixed with known volumes (excess) of ceric sulphate and the mixture refluxed for some time. Concentrated sulphuric acid and two or three drops of chrome alum (1%) solution were then introduced by means of a pipette from the top of the condenser and the refluxing continued for another period of time. With the first refluxing the sugar is oxidised to formic acid stage only whereas by the second procedure it is oxidised completely to carbon dioxide and water. Attempts are being made to employ the method for estimation of mixtures of aldehydic and ketonic sugars.

Materials

Ceric sulphate was prepared from ceric ammonium nitrate BDH AnalaR. About 30 g of it were dissolved in water and ceric hydroxide was precipitated by the least possible amount of ammonia. The precipitate was washed thoroughly by decantation

till free from ammonium and nitrate ions. The ceric hydroxide was then dissolved in 5 N sulphuric acid.

Chrome alum (BDH AnalaR) was used in preparing the solution for chromium ions. 1% solution was prepared directly by weight and about three drops of this solution were added in each experiment when required.

Concentrated sulphuric acid used was the A. R. quality of the International Chemicals Ltd., Calcutta. It was added to the reaction mixture as and when required.

Interchangeable glass joints were used throughout the progress of this work and the titration of excess oxidant was carried out by an automatic microburette against MOHRS salt using N-phenyl anthranilic acid as an internal indicator.

Table 1. *Oxidation of Sugars*

Vol. of sugar soln. ml	0.145 N $Ce(SO_4)_2$ soln. ml	Initial refluxing time min	Conc. H_2SO_4 ml	Final refluxing time min	$Ce(SO_4)_2$ consumed ml	Sugar	
						Found mg	present mg
			Glucose				
1	5	15	6	80	2.73	2.97	3.00
1	5	20	10	60	2.74	2.98	3.00
1	5	15	10	60	2.74	2.98	3.00
1	5	10	6	80	2.74	2.98	3.00
1	5	10	10	60	2.73	2.97	3.00
			Fructose				
1	5	15	7	75	2.82	3.10	3.12
1	5	15	10	60	2.83	3.11	3.12
1	5	10	15	50	2.83	3.11	3.12
1	5	10	7	75	2.82	3.10	3.12
1	5	10	10	70	2.83	3.11	3.12
1	5	5	10	70	2.82	3.10	3.12
			Sucrose				
1	5	10	10	80	2.48	2.25	2.26
1	5	15	15	60	2.48	2.25	2.26
1	5	10	15	60	2.48	2.25	2.26
3	10	15	10	60	7.44	6.75	6.78
2	10	10	10	60	4.96	4.50	4.52
			Lactose				
2	8	10	10	70	4.89	4.46	4.46
2	8	5	10	75	4.90	4.47	4.46
2	8	10	20	50	4.90	4.47	4.46
2	10	10	12	75	4.89	4.46	4.46
1	5	10	10	60	2.44	2.22	2.23
			Xylose				
1	5	10	7	75	3.11	2.93	2.93
1	5	10	15	50	3.10	2.92	2.93
1	5	10	10	60	3.12	2.94	2.93
1	5	5	10	60	3.11	2.93	2.93
1	5	5	15	60	3.10	2.92	2.93

Experimental

Solutions of the sugar were prepared directly by weight and were then standardised by the method described earlier[2]. Measured volumes of this solution were mixed with known excess of ceric sulphate and the mixture refluxed for some time. Concentrated sulphuric acid and a few drops of chrome alum (1%) were added from the top of the condenser and refluxing continued for another interval of time. The remaining excess of ceric sulphate was determined as usual[2, 3, 4]. The results obtained with different sugars are given in table 1.

A perusal of the data in table 1 indicates that under the experimental conditions described, glucose, fructose, sucrose, lactose, and xylose are all completely oxidised to carbon dioxide and water. The weight of carbohydrate calculated on the basis of complete oxidation is throughout in excellent agreement with the known we ght which was actually present in the solution. With the help of the new reagent, therefore, mono- and di-sacharides are oxidised according to the following equations:

$$C_6H_{12}O_6 + 12O = 6CO_2 + 6H_2O$$
$$C_{12}H_{22}O_{11} + 24O = 12CO_2 + 11H_2O$$

It had been shown in an earlier publication that in the presence of an equal volume of concentrated sulphuric acid, formic acid required about 75 minutes for complete oxidation to water and carbon dioxide. However, if the amount of sulphuric acid added is increased to double the volume of the reaction mixture, the above oxidation is completed within 50—60 minutes. The same periods of time have been found to be required for the complete oxidation of the inital oxidation products of the carbohydrates, confirming that the initial product is formic acid. The method described earlier[2] distinguishes between aldehydic and ketonic sugars whereas in the present method, both types are completely oxidised to carbon dioxide and water. A combination of the two methods can therefore be used for the estimation of mixtures of aldehydic and ketonic sugars.

Summary

1. Sulphato-cerate solution in the presence of chromium ions and sulphuric acid has been suggested as a new oxidising reagent.

2. The new reagent embodies the oxidising power of both sulphato-cerate as well as chromate solutions, it is stable even on prolonged refluxing.

3. It has been shown that glucose, fructose, sucrose, lactose and xylose can be oxidised completely to carbon dioxide and water by the above suggested reagent.

Acknowledgment. My sincere thanks are due to Dr. R. C. Mehrotra, Reader in Chemistry, University of Lucknow, for his valuable guidance throughout the progress of this work.

References

[1] Furman, N. H.: J. Amer. chem. Soc. **50**, 755 (1928). — [2] Sharma, N. N.: Anal. chim. Acta **14**, 423 (1956). — [3] Sharma, N. N., and R. C. Mehrotra: Anal. chim. Acta **11**, 417 (1954); cf. Z. analyt. Chem. **147**, 201 (1955). — [4] Sharma, N. N., and R. C. Mehrotra: Anal. chim. Acta **13**, 419 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **152**, 379 (1956). — [5] Smith, G. F.: Cerate Oxidimetry Published by G. F. Smith Chemical Co., Columbus. — [6] Willard, H. H., and P. Young: J. Amer. chem. Soc. **51**, 149 (1938).

N. N. Sharma, Department of Chemistry, Meerut College, Meerut (India)

Scottish Church College, Calcutta-6, India

Electro-Migration on Filterpaper in the Separation of Ions

By

Hari Gopal Mukerjee

(Eingegangen am 15. Oktober 1956)

Compared with all other techniques, electro-migration on filterpaper, in the analytical separation and identification of ions is simple as well as inexpensive, yet its powers of resolution are immense. It enables minute quantities to be separated successfully and easily.

Yasunaga and Shimomura[3] detected the ions Pb, Cu, Zn and Ni paper-electrochromatographically with sodium nitrate, potassium thiocyanate and tartaric acid as electrolytes. Similar investigations by Maki[1] resulted in the separations of zinc group cations with 4 N ammonia and 0.1 M ammonium tartrate and Zn-Co-Ni, Ni-Cu-Fe and Ni-Zn-Al with metaphosphoric acid and Strain[2] separated zinc group of cations with electrolytes such as 0.1 M lactic acid followed by two-way development in ammoniacal solution.

The object of this paper is to present an account of the study made on the migration of Zn and Mn, their separation from each other and from Ag, Hg, Pb, Cu, Bi, Cd, Co and Ni in binary, ternary and quaternary mixtures and in presence of electrolytes of different strengths.

Zn-Ag can be separated with electrolytes as potassium nitrate, sodium potassium tartrate, sulphuric and phosphoric acids. Similar s. parations of Zn-Hg with sulphuric, nitric, phosphoric and tartaric acids, potassium nitrate and sodium citrate; Zn-Co with sodium citrate; Zn-Bi with citric acid and Pb-Zn with ammonium thiocyanate have been done. Zn has been found to migrate towards anode in 0.1 N sodium citrate while in other electrolytes it migrates towards the cathode like Ag. Zn and Mn have practically the same migration rates in all the electrolytes studied

except in ammonia and in caustic soda solution where Zn moves leaving Mn at the start.

Successful separations of cations with distinct separation zones from ternary and quaternary mixtures of the type Zn-Pb-Ag and Zn-Pb-Cu with tartaric acid; Zn-Mn-Co and Zn-Mn-Ni with ammonia; Ag-Cd-Zn, Ag-Cu-Zn and Zn-Cd-Cu with sodium citrate; Zn-Pb-Hg, Zn-Pb-Cu, Zn-Pb-Ag and Cd-Zn-Pb-Ag with citric acid; Cu-Zn-Hg, Zn-Ag-Hg, Zn-Bi-Hg and Zn-Cd-Ag with ammonium thiocyanate; Zn-Ag-Hg, Zn-Ag-Pb, Zn-Pb-Bi-Hg and Zn-Cd-Bi-Hg with hydrochloric acid; Zn-Ag-Hg, Zn- Cd-Ag and Zn-Pb-Ag with ammonium chloride; Zn-Bi-Hg, Zn-Cd-Hg and Zn-Cd-Ag with potassium chloride; Zn-Ag-Cd, Zn-Pb-Cd-Hg and Zn-Bi-Cd-Hg with potassium iodide; Zn-Ag-Hg and Zn-Pb-Ag with sodium nitrite have been achieved.

Where ions can be separated from a quaternary mixture with a particular electrolyte, their separation sequences from different ternary or binary mixtures composed of the same ions in presence of same electrolyte have not been incorporated.

Electrochromatographic separations and identifications of platinum group cations from each other and their separations from other sulphide group cations, namely, Hg, Cu, Bi, Cd, As, Fe, Co, Ni and Zn are also in progress. Results obtained are satisfactory in most cases.

Apparatus and Experimental Procedure

This experiment was performed according to DURRUM's simple hanging strip type of apparatus. Two glass vessels were covered with a plastic sheet having two straight slits and two small round holes, in such a way that each straight slit and a round hole is over each vessel. An inverted *T* shaped stand was then placed on the sheet in between the two slits. A paper (Whatman No. 2) strip (1 cm × 42 cm) was placed on the inverted *T* shaped stand, the two ends of the strip after passing through the slits, touch the electrolyte in the two glass vessels. The top region of the paper strip is marked and a drop (0.01 ml) of the mixture (1 ml of each nitrate solution having a cation concentration of 5 mg/ml is mixed for the preparation of the mixture) is placed on the marked region. The paper strip is then moistened carefully with electrolyte and then covered and each platinum electrode is introduced into the vessel through the small round hole. The electrodes were then connected to a d.c. current at a potential of 150 volts. In case of binary and ternary mixtures the current has been passed for 5 hours and for quaternary and hexanary mixtures for 10 hours. After the experiment the paper strip was dried and developed with specific reagent for location of the zone of the separated ions.

In the table 1 the electrodes are indicated by the signs "+" and "—" and the starting point by ":". When the movements of the ions are towards cathode, they are shown on the left side of the starting point, when towards anode they are shown on the right side of the starting point. An ion which moves partly towards cathode and partly towards anode is included in the parenthesis.

Table 1

Separation Sequences of Ions in Solution containing Cations: Two	Three	Four	Electrolytic Solution
— Zn, Ag : +; — Zn, Hg : +.			0.1 N Sulphuric acid
— Zn, Hg : +.			0.1 N Potassium sulphate
— Zn, Hg : +.			0.1 N Nitric acid
— Zn, Ag : +; — Zn, Hg : +.			0.1 N Potassium nitrate
— Zn, Ag : +; — Zn, Hg : +.			0.1 N Phosphoric acid
— Ag : (Zn) +.			0.1 N Sodium potassium tartrate
— Zn, Hg : +.	— Zn, Pb, Ag : +; — Zn, Pb, Cu : +.		0.1 N Tartaric acid
— Zn, Mn : +.	— Zn, Ni, Mn : +; — Zn, Co, Mn : +.		2 N Ammonia
— Zn, Bi : +.	— Zn, Pb, Hg : +; — Zn, Pb, Ag : +; — Zn, Pb, Cu : +.		0.1 N Citric acid
: Zn, Co +; — (Hg) : Zn +.	— Ag : Cd, Zn +; — Ag : Cu, Zn +; — : Cd, Zn, Cu +.		0.1 N Sodium citrate
		— Cd, Zn, Pb, Ag : +.	1 N Citric acid
— Pb, Zn. : +.	— (Cu) : Zn, Hg +; — Zn, Bi : Hg +; — Zn, Ag : Hg +; — Zn, Cd : (Ag) +.		0.1 N Ammonium thiocyanate
	— Zn, Ag : Hg +; — Zn, Pb, Ag : +.	— Zn, Pb : Bi, Hg +; — Zn, Cd : Bi, Hg +.	0.1 N Hydrochloric acid
	— Zn, Ag : Hg +; — Zn, Cd, Ag : +; — Zn, Pb, Ag : +.		0.1 N Ammonium chloride
	— Zn, Bi : Hg +; — Zn, Cd : Hg +; — Zn, Cd, Ag : +.		0.1 N Potassium chloride
	— Zn, Ag : Cd +.	— Zn, Pb : Cd, Hg +; — Zn, Bi : Cd, Hg +.	0.1 N Potassium iodide
	— Zn, Ag : Hg +; — Zn, Pb, Ag : +.		0.1 N Sodium nitrite

Table 2

Sequences of Ions in Solution containing Cations:		Electrolytic Solution
Four	Six	
—[Co, Zn]: Bi, Hg+; —[Cu, Zn]: (Cd), Hg+; —[Cu, Zn, Pb]: Hg+.		0.1 Hydrochloric acid
	—Pb, [Co, Zn, Cd,] Cu : Hg+.	0.1N Ammonium thiocyanate

In the table 2 are given the results for some mixtures whose cations cannot be completely separated but can easily be identified. The ions included within the sign, "[ ]" indicate that a portion of their migration zones are common.

Summary

A study of the migration sequences of zinc and manganese, their separation from each other and from other ions such as Ni, Co, Ag, Cu. Pb, Bi, Hg and Cd in different electrolytes has been made. Zn and Mn ions from different binary, ternary and quaternary mixtures have been effectively separated and six cations from a mixture Pb-Co-Zn-Cd-Cu-Hg can be easily identified. Their complete separation is not possible under the conditions studied.

Acknowledgment. Grateful thanks of the author are due to Prof. R. N. Das, Head of the Department of Chemistry and to Prof. Dr. S. K. Banerjee, D. Sc., Scottish Church College, Calcutta, for their valuable advice and kind interest in my work.

References

[1] Maki, M.: Jap. Analyst **3**, 393 (1954); **4**, 304 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **150**, 208 (1956). — [2] Strain, H. H.: Analyt. Chemistry **24**, 356 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **137**, 447 (1952/53). — [3] Yasunaga, S., and O. Shimomura: J. pharmac. Soc. Japan **74**, 66 (1954); cf. Z. analyt. Chem. **145**, 284 (1955).

Prof. H. G. Mukerjee, M. Sc., 3 Lake Place, Calcutta-29, India

---

Chemical Laboratories, University of Allahabad, Allahabad (India)

Disodium-1,8-dihydroxy-naphthalene-3,6-disulphonate (Chromotropic Salt) as a Reagent in Inorganic Analysis

Colour Reactions with Metallic Ions

By

Krishna C. Mathur and Arun K. Dey

(Eingegangen am 9. Oktober 1956)

Disodium-1,8-dihydroxy-naphthalene-3,6-disulphonate (chromotropic salt) is known to yield coloured complexes with chromium(VI)[2], vanadium and titanium[1]. The compound has the

Table 1

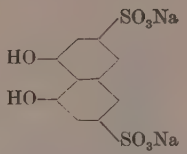
Sl. No.	Metallic salt	Coloration			Remarks
		Acid	Neutral	Alkaline	
1.	Reagent (chromotropic salt)	Very light yellow	Light yellow	Light pink	
2.	Silver nitrate	No change	Greenish yellow	No change	Hydrolysis occurs in alkaline medium
3.	Mercurous nitrate*	Yellow	Deep yellow	Deep yellow	Very sensitive
4.	Lead nitrate	No change	No change	No change	
5.	Thallous sulphate*	No change	No change	No change	
6.	Potassium tungstate	No change	No change	No change	
7.	Mercuric chloride	No change	Light yellow	Yellow	Hydrolysis occurs in alkaline medium
8.	Cupric sulphate	No change	No change	No change	
9.	Bismuth nitrate*	No change	No change	No change	Hydrolysis occurs
10.	Cadmium sulphate	No change	No change	No change	Hydrolysis occurs in alkaline medium
11.	Potassium arsenite	No change	No change	No change	
12.	Sodium arsenate	No change	No change	No change	
13.	Antimony chloride*	No change	No change	No change	Hydrolysis occurs
14.	Stannous chloride*	No change	No change	No change	
15.	Stannic chloride*	Light yellow	Light yellow	Light yellow	Sensitive
16.	Platinic chloride**	No change	No change	Pink	
17.	Auric chloride**	No change	Light pink	Pink	Very sensitive
18.	Potassium selenate	No change	No change	No change	
19.	Potassium tellurate	Yellow	Ligth pink	No change	
20.	Ammonium molybdate	Yellow	Yellow	Yellow	Very sensitive

Table 1 (continued)

21.	Cerous sulphate*	No change	No change	No change	
22.	Ceric ammonium sulfate*	No change	No change	No change	
23.	Thorium chloride*	No change	No change	No change	
24.	Ferrous ammonium sulphate*	No change	No change	No change	
25.	Ferric chloride*	Green	Green	Green	Sensitive
26.	Aluminium nitrate	Very light green	Very light green	Very light green	
27.	Chromium nitrate	No change	Bluish green	Green	Sensitive
28.	Potassium dichromate	Reddish brown	Reddish brown	Reddish brown	Sensitive
29.	Cobalt nitrate	No change	No change	No change	
30.	Nickel sulphate	No change	No change	No change	Hydrolysis occurs in alkaline medium
31.	Zinc nitrate	No change	No change	No change	
32.	Manganous chloride	No change	No change	No change	
33.	Uranyl nitrate**	Light brown	Brown	Dark brown	Sensitive
34.	Ammonium vanadate	Deep yellow	No change	No change	Sensitive
35.	Beryllium sulphate*	No change	No change	No change	
36.	Titanium potassium oxalate*	Reddish brown	Reddish brown	Reddish brown	Very sensitive
37.	Zirconium nitrate*	No change	No change	No change	
38.	Barium chloride	No change	No change	No change	
39.	Strontium chloride	No change	No change	No change	
40.	Calcium chloride	No change	No change	No change	
41.	Magnesium chloride	No change	No change	No change	

* Acid added to prevent hydrolysis.
** Solutions employed were 0.01 M

structure:



It is widely used as a reagent for titanium in an acidic medium, where it gives a reddish brown coloration. Ware[3] describes the use of this reagent and the production of colour with metallic ions in acidic and in alkaline media.

We have in this paper, noted qualitatively, the reactions of chromotropic salt with various metallic ions in acid, neutral and in alkaline media with a view to extend the use of this reagent in inorganic colorimetric analysis.

Experimental

A 0.1% solution of chromotropic salt B. D. H. indicator was prepared in double distilled water. In each of the cases the solutions were freshly prepared. Solutions of various metallic salts using analytical grade reagents were prepared of 0.1 M concentration in water, acid being added in several cases to prevent hydrolysis. In several test tubes one ml of the solutions was taken and two to three drops of the reagent solution were added to each and the colour was visually noted and compared with an equal amount of reagent diluted with water to the same extent. Table 1 records the colour reactions produced with various metallic salts in acid, neutral and alkaline media.

We have noted that the reagent is very sensitive for mercurous, tin(IV), gold(III), molybdenum(VI), iron(III), and uranyl(II) in addition to titanium and chromium(VI). Beers law has been found to be obeyed with uranium and iron. Investigations are in progress in the case of other metallic ions.

Further work on the colorimetric determination of dilute solutions of mercurous, tin, gold, molybdenum, iron and uranyl ions is in progress. A study of the effect of p_H is also being studied.

Summary

The compound disodium-1,8-dihydroxy-naphthalene-3,6-disulphonate (sodium salt of chromotropic acid) is employed as a colorimetric reagent for titanium. It is also known to produce coloured complexes with chromium(VI), vanadium and uranium. In the present paper the formation of colour with forty metallic ions has been studied qualitatively, in neutral as well as in alkaline and acidic media. It has been found that the reagent yields coloured complexes with mercury(I), tin(IV), platinum(IV), gold(III), tellurium(VI), molybdenum(VI), iron(III), aluminium(III), chromium(III), and uranyl(II) besides those recorded above.

The colour reactions are particularly sensitive to uranyl(II), iron(III), mercury(I), tin(IV), gold(III) und molybdenum(VI).

References

[1] B. D. H.: Book of Analytical reagents, Poole, 1949, p. 33. — [2] König, P.: Chemiker-Ztg. **35**, 277 (1911); cf. Z. analyt. Chem. **62**, 231 (1923). — [3] Ware, E.: U. S. Atomic Energy Comm. Rep. MDDC, 1432 (1945).

Dr. A. K. Dey, Chemical Laboratories, University of Allahabad, Allahabad (India).

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Papierchromatographie. M. Potterat[1] beschreibt eine *neue papierchromatographische Technik*, die eine Kombination der Streifenpapierchromatographie nach W. Matthias[2] mit der Rundfilterchromatographie ist. Ein Rundfilter wird so gefaltet und nahe der Mitte sternförmig ausgeschnitten, daß es in 8 Segmente geteilt ist. Dadurch können auf einem Papier 8 verschiedene Chromatogramme gleichzeitig aufgenommen werden. In jedes Segment wird 1 Tropfen der zu untersuchenden Lösungen gebracht. Durch ein Loch in der Mitte des Papiers wird ein Docht gesteckt, durch den die Verteilungsflüssigkeit angesaugt wird. Die Entwicklung erfolgt in einer mit Uhrglas bedeckten Petri-Schale. Die Methode hat sich zur Trennung von Zuckern, z. B. Lactose, Maltose, Saccharose, Glucose und Fructose, ferner für Glucose von Fructose und Mannose von Fructose bewährt. Als Lösungsmittel dient n-Propanol-Äthylacetat-Wasser (65 : 10 : 25). Auch organische Säuren, Aminosäuren und Purine konnten getrennt werden. G. Denk

J. Fellegi und L. Sláma[3] beschreiben ein einfaches *Photometer zur Auswertung von Papierchromatogrammen im reflektierten Licht.* Das Chromatogramm wird vor einem Spalt verschoben, durch den ein Lichtstreifen auf das Papier fällt. Die Intensität des zurückgestrahlten Lichtes wird mit Hilfe zweier Selen-Sperrschichtzellen unter einem Winkel von etwa 45° gemessen. Durch Registrierung der Intensitäten erhält man Helligkeitskurven, in welchen die Höhen der Maxima bzw. die Helligkeitsflächen der Konzentration der Stoffe proportional sind. Diese lineare Abhängigkeit wird durch eine besondere Stromführung an Stelle der eigentlich vorhandenen logarithmischen Abhängigkeit erreicht. Man kann mit Hilfe des Apparates Chromatogramme auch dann auswerten, wenn die Flecken nur unvollkommen voneinander getrennt sind. So gelingt es, D-*Galaktose*, D-*Glucose*, D-*Mannose*, L-*Arabinose*, D-*Xylose und* L-*Rhamnose* auf eindimensionalen Chromatogrammen zu bestimmen. Die Mengen der einzelnen Zucker müssen im Bereich 10—100 μg liegen. Die Messungen sind auf 5—7% reproduzierbar. Das Gerät dürfte sich auch zur Auswertung von Elektropherogrammen eignen. A. Kurtenacker

K. Holzer[4] empfiehlt zum Auftragen von Lösungen auf die Startpunkte von Papierchromatogrammen eine in ganze und halbe Mikroliter geteilte, abgewinkelte

[1] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **47**, 66—71 (1956). Serv. féd. de l'hygiène publ., Bern (Schweiz).

[2] Naturwissenschaften **41**, 17 (1954); vgl. diese Z. **150**, 209 (1956).

[3] Chem. Zvesti **10**, 314—321 (1956) [Slowakisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Forsch. Inst. d. Zelluloseind. Bratislava (ČSR).

[4] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1434. Univ. Graz (Österreich).

und auf Ausguß geeichte *Pipette*[1]. Das Lumen der Capillare soll so gehalten werden, daß ein Abstand von 0,5—1 cm auf der Skala 1 μl entspricht. Die Ausflußöffnung der im rechten Winkel ausgezogenen Spitze soll plan geschliffen sein, um durch leichtes Aufdrücken einen guten Kontakt mit dem Papier zu erzielen. Die Auftragpipette ist einfach zu handhaben, da infolge der großen Reibung der geringen Flüssigkeitsmenge in der Capillare bei waagerechter oder nur wenig geneigter Haltung der Pipette die Gefahr einer Verschiebung der Flüssigkeitssäule während des Auftragens nicht besteht. K. Machner

Zur Verbesserung der Rundfilterpapierchromatographie empfiehlt N. C. Ganguli[2] einen Docht, der aus einem T-förmigen Filterpapierstück besteht. Der obere Querstreifen, den man horizontal zusammenrollt und im Mittelpunkt des Chromatographierpapiers anbringt, hat eine Breite von 2 cm und eine Höhe von 0,5 cm; der anhängende Längsstreifen ist 1,5 cm lang und 0,3 cm breit. Diese Art des Dochtes bietet durch langsamere Zufuhr des Entwicklers eine bessere Trennungswirkung und stellt auch eine gute Verbindung mit dem Chromatographierpapier her. Als Beispiel wird die Trennung von 15 Aminosäuren eines Proteinhydrolysats auf Whatman Nr. 1-Papier (18 cm$\varnothing$) mit dem Lösungsmittel n-Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:1) angeführt, wobei für eine radiale Wanderweite von 8,5 cm eine Entwicklungsdauer von 5 Std erforderlich war. F. Schärtl

II. Analyse anorganischer Stoffe

Wasserstoffperoxyd. F. Capitán-García und M. Lachica-Garrido[3] schlagen auf Grund ihrer spektrophotometrischen Studien an Chrom(III)-sulfatlösungen[4] folgende Methode zur Wasserstoffperoxydbestimmung vor. In ein 50 ml-Meßkölbchen gibt man 5 ml einer etwa 1 n Kaliumdichromatlösung und 3 ml konz. Schwefelsäure. Man fügt unter Abspülen der Kolbenwandung 10—15 ml dest. Wasser hinzu, kühlt ab und versetzt mit der zu untersuchenden Wasserstoffperoxydlösung, deren Gehalt über 15 mg/100 ml liegen soll. Man schüttelt kräftig und bestimmt nach 5 min die Extinktion bei 590 mμ. Der Wasserstoffperoxydgehalt wird einer Eichkurve entnommen. — Die Reihenfolge der Reagenszugabe muß eingehalten werden, die Säurekonzentration soll zwischen 1 und 2,5 m liegen. Das Beersche Gesetz wird von 0—192 mg H_2O_2/100 ml erfüllt. Der prozentuale Fehler liegt zwischen 0 und 3%. Irmgard Pfitzer

Kupfer, Nickel. I. P. Alimarin und V. V. Koreneva[5] trennen *kleine Kupfermengen von Nickel und Kobalt durch Extraktion von Kupfer-Salicylaldiminat* (Kupfersalz des Salicylaldehyd-imids) mit organischen Lösungsmitteln. Aus 13 untersuchten Lösungsmitteln wurde Chloroform ausgewählt. — *Arbeitsweise. I. Trennung geringer Cu-Mengen von Ni.* Zum Gemisch reiner Cu- und Ni-Salze werden 1 ml 2%ige alkohol. Salicylaldehydlösung, 8 ml 25%iges Ammoniak und

[1] Hersteller: Fa. Paul Haack, Wien IX, Garnisongasse 3.

[2] Naturwissenschaften **42**, 486 (1955). Univ. Coll. Sci., Techn., Calcutta (Indien).

[3] An. Real. Soc. espaň. Física Quím., Ser. B, **52**, 257—264 (1956). Estación Experim. del Zaidin, Granada (Spanien).

[4] Capitán-García, F., und M. Lachica-Garrido: An. Real. Soc. espaň. Física Quím., Ser. B, **52**, 237 (1956); vgl. diese Z. **154**, 366 (1957).

[5] Zavodskaja Laborat. (Betriebslab.) **22**, 402—405 (1956) [Russisch]. Lomonossow-Inst. chem. Feintechnol., Moskau.

10 ml Chloroform zugegeben, die wäßrige Phase wird auf 15 ml aufgefüllt und es wird 1 min geschüttelt. Nach dem Entmischen wird das Cu aus der $CHCl_3$-Schicht mit 5 ml 4 n Salzsäure extrahiert und photocolorimetrisch bestimmt. Es können Mikrokupfermengen von 10 mg Ni beim Verhältnis Cu:Ni = 1:2000 und $p_H \geqslant 7$ befriedigend und reproduzierbar abgetrennt werden. *2. Bestimmung von Kupfer und Nickel in Kobalterzen.* 10—15 ml der Prüflösung (Auflösung des Co-Erzes mit wenig Ni und Cu) werden mit 2 ml 4 n NH_4Cl-Lösung, 5 ml 20%igem Ammoniak und 1,5 ml Perhydrol versetzt und gekocht bis zum Verschwinden der Überschüsse (O_2, NH_3). Nach dem Abkühlen werden 1—1,5 ml 2%ige alkohol. Lösung von Salicylaldehyd und 10 ml $CHCl_3$ zugegeben und $^1/_2$ bis 1 min wird geschüttelt. Durch Zusatz von 3—5 ml verd. Salzsäure (1:10) zur Chloroformlösung werden Ni und Cu daraus gelöst; man fügt 0,5 ml 2%ige alkohol. Salicylaldehydlösung zum Salzsäureauszug, ferner 10 ml 20%iges Ammoniak und wieder 10 ml $CHCl_3$. Nach dem Schütteln bleibt das Ni in der wäßrigen Lösung, das Kupfer geht in die Chloroformphase. Die Trennung gelingt auch bei großem Co-Überschuß (100 mg Co oder Co:Cu = 20000:1). A. v. Wilpert

Magnesium. Nach verschiedenen erfolglosen Versuchen nahmen K. Győrbíró, L. Poós und J. Proszt[1] in der Heyrovský-Schaltung die oscillographische *v-t*-Kurve Magnesium enthaltender Elektrolyte auf. Da hierzu eine genügend konzentrierte Grundlösung nötig ist, wurde statt Tetramethylammoniumjodid das löslichere Chlorid in ungefähr 0,7 m Lösung verwendet. Mit Hilfe der modifizierten strömenden Quecksilberelektrode[2] ergab sich in dieser Lösung bei der Mg-Konzentration 0,003 m eine gute *v-t*-Kurve, an deren kathodischem Zweige bei — 2,55 Volt eine gut ausgeprägte Magnesiumstufe erschien. Die Stufe ist reversibel. Wie das Oscillogramm zeigt, erfolgt die Reduktion des Tetramethylammonium-Ions erst bei - 2,85 Volt. Auf Grund dieser Erfahrungen kann die polarographische Bestimmung wie folgt ausgeführt werden. In einem Konzentrationsbereich von $3{,}10^{-3}$—$5{,}10^{-4}$ m Magnesium, zweckmäßig bei p_H 5,4—6,8, kann in der genannten Grundlösung mit Hilfe der strömenden Quecksilberelektrode eine gut auswertbare Magnesiumstufe erhalten werden. Das Halbstufenpotential ist — 2,60 V. Von Fremd-Ionen ist K^+ ohne Einfluß, in Gegenwart von Lithium fließt dessen Stufe mit der Magnesiumstufe zusammen. In Ca-haltigen Lösungen ist die Calciumstufe gut erkennbar, die Magnesiumstufe wird aber unbestimmt. Auf der oscilligraphischen *v-t*-Kurve erscheinen drei Stufen, die den Kalium-, Calcium- und den Lithium + Magnesium-Ionen entsprechen. J. Plank

Eine Verbesserung bei der colorimetrischen Magnesium- und Ammoniumbestimmung durch Natriumpolyacrylat, die A. Mehlich[3] beschreibt, beruht auf der stabilisierenden Wirkung des Natriumpolyacrylats für die gebildeten Farblacke. Es werden Methoden für 1—12 ppm Mg und einige Milliliter 0,01 n NH_4-Lösung beschrieben. — *Bestimmung von Magnesium.* Es werden folgende Lösungen benötigt: a) 2 g $CaCl_2 \cdot 2\,H_2O$, 1 g Hydroxylamin und 0,5 g $AlCl_3 \cdot 6\,H_2O$ werden in Wasser gelöst, mit 100 ml Triäthanolamin vermischt und auf 1 Liter mit Wasser aufgefüllt. b) 0,15 g Thiazolgelb und 1 g Natriumpolyacrylat werden in 1 Liter Wasser gelöst. — Zur Durchführung der Bestimmung mischt man z. B. 2 ml etwa 0,02 n Mg-Lösung mit 2 ml Wasser, je 2 ml der Lösungen a) und b) und 2 ml 8%iger Natronlauge.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 102—106 (1956) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Techn. Univ. Budapest.

[2] Győrbíró, K., u. L. Poós: Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 64 (1956).

[3] J. Assoc. Off. agric. Chemists **39**, 518—523 (1956). North Carolina Agricultural Experiment Station, Raleigh, N. C. (USA).

(Andere Mischungsverhältnisse vgl. Original.) Nach 1—8 Std mißt man die Durchlässigkeit der Lösung bei 540 mμ und bestimmt den Gehalt mit Hilfe von Eichkurven. — *Bestimmung von Ammonium.* 5 ml-Anteile von Vergleichslösung bzw. unbekannter Lösung werden mit 8 ml Wasser, 10 ml einer Lösung aus 50 g Natriumtratrat und 1 g Natriumpolyacrylat in 1 Liter Wasser und 2 ml Nesslers Reagens vermischt. Nach 25 min mißt man die Durchlässigkeit bei 410 mμ und wertet mit Hilfe von Vergleichskurven aus. Zur Darstellung des Nesslerschen Reagenses löst man 45,5 g HgJ_2 und 35 g KJ in 50—75 ml Wasser, fügt 112 g KOH hinzu und verdünnt nach dem Vermischen und Abkühlen auf 1 Liter. Man verwendet die Lösung erst nach einigen Tagen, nachdem man von den abgeschiedenen Anteilen dekantiert hat. Für geringere Konzentrationen verwendet man eine entsprechend verdünntere Lösung. Hildegard Pluskal

Zink. *Bei der qualitativen Trennung und dem Nachweis von Zink* werden nach Versuchen von J. R. Wilkinson, E. G. Sheleck und R. K. Sheline[1] bei genauer Einhaltung des Verfahrens von C. J. Engelder[2] mindestens 75% des Zn als ZnS gefunden. Die Versuche wurden durch Messung der Strahlung von ^{65}Zn in 0,01 bis 0,001 m Lösungen durchgeführt. Verluste, die durch Adsorption am Niederschlag $MnO_2 + Fe(OH)_3$ entstehen, betragen ~ 8%. Aus 0,01 m Lösungen können ebenfalls 8% an $Al(OH)_3$ adsorbiert werden, bei geringeren Konzentrationen nur 3—4%. Die Adsorption am $BaCrO_4$-Niederschlag beträgt 2—3%, am CoS + NiS-Niederschlag 1—2%, falls die Einwirkungsdauer der zur Lösung benötigten Salzsäure (1:9) 2—3 min beträgt. Bei einer Einwirkungsdauer < 1 min bleiben große Mengen Zink im Sulfidniederschlag.

Nach A. Lacourt und P. Heyndryckx[3] können sehr kleine Zinkmengen (0,1—3 μg Zn) mit einem Fehler von 0,29—0,09% bestimmt werden, indem man die Farbintensität eines gefärbten Zink-Dithizonflecks auf Whatman-Filterpapier Nr. 4 im durchfallenden Licht mißt. Die Untersuchung noch geringerer Mengen ist geplant[4]. — *Arbeitsweise.* Bei Gegenwart störender Ionen wird Zink vor der Bestimmung chromatographisch abgetrennt[5]. Dann erzeugt man auf Whatman Nr. 4 Filterpapier (1 cm × 1 cm) mit Hilfe einer Dithizonlösung in CCl_4 (15 mg in 100 g CCl_4) einen gefärbten Zn-Dithizonfleck. Man befestigt das Papier zwischen der Wand einer 1 cm-Küvette und einer mit Wasser gefüllten 0,9 cm-Küvette gerade gegenüber der Öffnung eines Beckman-Colorimeters, mißt die Absorption des Flecks bei 520 mμ unter Verwendung einer Schlitzöffnung von 0,28 mm, Hg-Lampe und roter Photozelle und wertet mit Hilfe von Eichkurven aus. Ein Blindwert für die Absorption des Papiers und Dithizons braucht für eine Versuchsreihe nur einmal bestimmt zu werden, da die Reproduzierbarkeit sehr gut ist. H. Pluskal

J. A. Hunter und C. C. Miller[6] geben *zur Abtrennung und Bestimmung von Zink* folgendes Verfahren an, das eine Erweiterung einer früher beschriebenen Methode ist[7]. Man adsorbiert das Zink aus 2 n salzsaurer Lösung an einem *Anionen-*

[1] J. chem. Educat. **32**, 613—614 (1955). Univ. Tallahassee, Florida (USA).

[2] A Textbook of Elementary Qualitative Analysis. John Wiley & Sons, Inc. New York 1947.

[3] Chem. Age, **1956**, June 2. Univ. Brüssel.

[4] Vgl. auch A. Lacourt und P. Heyndryckx: Mikrochim. Acta **1956**, 1389; vgl. diese Z. **154**, 369 (1957).

[5] Lacourt, A., und P. Heyndryckx: Mikrochim. Acta **1954**, 630; vgl. diese Z. **148**, 281 (1955/56).

[6] Analyst **81**, 79—93 (1956). Univ. Edinburgh (Schottland).

[7] Miller, C. C., and J. A. Hunter: Analyst **79**, 483 (1954); vgl. diese Z. **147**, 77 (1955).

austauscher in der Chloridform (Amberlite IRA-400), fixiert das Cadmium mit Jodwasserstoffsäure auf der Säule, eluiert das Zink mit Wasser und 0,25 n Salpetersäure und titriert im Eluat das Zink in Mengen von 0,1—5 mg *komplexometrisch* bei pH 9,5 mit Eriochromschwarz T als Indicator und spektrophotometrischer Endpunktsanzeige bei 665 mμ. Die komplexometrische Titration wird gestört durch Gallium, Indium, Titan und Uran, die bei der Behandlung mit dem Ionenaustauscher beim Zink bleiben. Man entfernt diese 4 Elemente zusammen mit Blei und Zinn durch Extraktion des Zinks als Zinkpyridinrhodanid mit Chloroform aus dem Austauschereluat. Aus der Chloroformphase führt man das Zink zusammen mit Kupfer, Eisen(II) und Mangan durch Schütteln mit ammoniakalischer wäßriger Phase in letztere über. Die 3 letztgenannten Elemente liegen durch die Austauscherbehandlung in so kleinen Konzentrationen vor, daß die komplexometrische Zinkbestimmung nicht mehr gestört wird. Die Verff. beschreiben an *Legierungen und Gläsern* ausgeführte Analysen, die bei einem Gesamtkationengehalt von 100 mg nur 0,5—5 mg Zink auf 15 bzw. 8 μg Zink genau ausgeführt werden konnten. Bei der Elution des Zinks aus der Säule wird dieses von viel Zinn, etwas Molybdän, wenig Indium, Blei, Platin, Titan und Wolfram als Phosphorwolframat und sehr wenig Antimon, Kupfer, Gallium, Eisen(III), Mangan, Thallium, Thorium, Uran und Zirkon begleitet. Behandelt man die Austauschersäule vorher mit Methylarsonsäure, dann erhält man beim Versetzen der Untersuchungslösung mit der gleichen Säure und Behandlung mit dem Austauscher eine Abtrennung großer Mengen des das Zink begleitenden Zinns. Im Original sind ausführliche Vorschriften für die Bestimmung von 0,5—5 mg Zink in Mischungen (Legierungen, Borosilicatglas) enthalten.

K. Brodersen

Zur polarographischen Bestimmung kleiner Zinkmengen neben viel Aluminium und Kupfer ist nach I. Bozsai[1] am besten eine Grundlösung geeignet, die Sulfosalicylsäure, Ammoniumchlorid und Ammoniak enthält. Das Halbstufenpotential von Zink beträgt in dieser Lösung —1,07 Volt (gegen das Bodenquecksilber gemessen). Große Magnesiummengen stören nicht, in Gegenwart von Aluminium, welches die Stufenhöhe vermindert, ist die Zusatzmethode anzuwenden. Zur Entfernung von Luftsauerstoff wird eine gesättigte Natriumsulfitlösung, zur Dämpfung des Maximums eine Gelatinelösung verwendet. — *Ausführung. Magnesium-Aluminiumlegierungen* löst man in Salzsäure, oxydiert mit Salpetersäure, dampft zur Sirupdicke ein, filtriert die Kieselsäure ab und füllt auf 50 ml auf. Zu 5 ml dieser Lösung werden 5 ml 10%ige Sulfosalicylsäure, 12,5 ml 1 n Ammoniumchloridlösung, 15 ml 1 n Ammoniak unter beständigem Schütteln in kleinen Anteilen zugegeben, 1 ml 0,5%ige Gelatinelösung und 1 ml gesättigte Natriumsulfitlösung werden zugefügt, worauf man auf 50 ml auffüllt. Zu gleichen Anteilen der Lösung werden bekannte Zinkmengen zugesetzt. Man polarographiert dann von —0,8 V angefangen mit $^1/_{50}$ Empfindlichkeit bis —1,5 Volt. — *Aluminiumlegierungen* werden in derselben Weise untersucht, wenn aber der Kupfergehalt 5% überschreitet, muß das Kupfer zuvor elektrolytisch entfernt werden. — *Kupferlegierungen* löst man in Salpetersäure, scheidet Zinn als SnO_2, Blei als $PbSO_4$, Kupfer elektrolytisch ab und verarbeitet dann wie oben. — *Kupferschlacke* wird in Salpetersäure und Flußsäure gelöst. Man verdampft zur Trockne, glüht, schließt den Rückstand mit Natriumpyrosulfat auf, entfernt Kupfer elektrolytisch und führt die Zinkbestimmung nach der Zusatzmethode aus. Die Dicke von *galvanischen Zinkbelägen* können in der Weise bestimmt werden, daß vom Probestück bekannter Oberfläche das Zink in Salpetersäure gelöst wird, Eisen wird hierbei passiviert,

[1] Magyar Kémiai Folyóirat 62, 139—142 (1956) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Rákosi Mátyás-Werke, Budapest.

die Eisenspuren entfernt man mit Ammoniak und berechnet nach der polarographischen Zinkbestimmung aus deren Menge die Schichtdicke. Der maximale Fehler der Methode beträgt ± 1,5%. J. Plank

Cadmium. *Zur maßanalytischen Bestimmung von Cadmium* empfehlen G. S. Deshmukh und M. Venugopalan[1] die Fällung mit überschussigem Kaliumhexacyanoferrat(II) in Gegenwart von Kaliumchlorid als Elektrolyten. Je nach der Konzentration des Fällungsreagenses (1% oder 2—4%) kommt es zur Bildung von $K_2CdFe(CN)_6$ bzw. $Cd_3K_6[Fe(CN)_6]_4$. Nach Abtrennen des Niederschlages wird im Filtrat das überschüssige Cyanoferrat(II) mit eingestellter Cer(IV)-sulfatlösung zurückbestimmt. — *Arbeitsweise.* In einem 250 ml-Meßkolben wird die Cadmiumchloridlösung (25—50 mg Cd) mit einem Überschuß an Kaliumcyanoferrat(II) (25—50 ml einer frisch bereiteten 2—4%igen Lösung) und etwa 50 ml 2%iger KCl-Lösung versetzt, zur Marke aufgefüllt und unter häufigem Schütteln etwa 12 Std stehengelassen. Der Niederschlag wird abfiltriert (Whatman Nr. 50), die ersten Anteile des Filtrats werden verworfen. Vom folgenden Filtrat werden 50 ml mit 20 ml 4,5 n Schwefelsäure versetzt und unter Verwendung von Phenanthrolin als Indicator mit Cer(IV)-sulfatlösung titriert. Die $K_4Fe(CN)_6$-Lösung wird durch Titration mit Cer(IV)-sulfatlösung eingestellt. Nach den mitgeteilten Analysenzahlen beträgt die Genauigkeit dieser Methode einige Zehntel Prozente. K. Machner

Nach N. A. Ramaiah, S. K. D. Agarwal und S. L. Gupta[2] läßt sich Cadmium vorzüglich in neutraler Lösung an der Tropfelektrode (m = 2,5 mg sec, t = 1,6 sec) mit Kaliumchlorid (1 m) als Leitsalz und bei −0,9 V gegen die gesättigte Kalomelelektrode *mit Kaliumcyanoferrat(II)-lösung amperometrieren.* Bei Titration von 5—50 mMol in 0,025—0,25 m Lösung mit etwa zehnfach konzentrierter Maßlösung werden Titrierfehler beobachtet, die höchstens 0,05 ml entsprechen. Die Titrationskurven sind L-förmig, der Äquivalenzpunkt entspricht nach neuen Untersuchungen[3] der Fällung von $Cd_3K_6[Fe(CN)_6]_4$. K. Cruse

Zur gleichzeitigen Bestimmung von Cadmium und Chlorid in Lösungsgemischen von Cadmium- und Alkalichlorid wird von J. L. Barton, H. Bloom und N. E. Richards[4] eine maßanalytische Methode vorgeschlagen, bei der die Cadmiumbestimmung durch Titration mit Lauge bei über 70 °C gegen Thymolphthalein als Indicator erfolgt. In der Hitze bilden sich keine basischen Cadmiumsalze; beim Farbumschlag des Indicators (p_H 10) ist die Fällung als $Cd(OH)_2$ quantitativ. Chlor-Ionen, die Anlaß zur Bildung von Cadmiumkomplexen geben würden, müssen vor der Titration mit Lauge entfernt werden. — *Arbeitsweise.* Man löst 0,5—1 g der Probe in 100 ml Wasser und neutralisiert einen aliquoten Teil der Lösung (25 ml) mit 0,05 n Natronlauge gegen Methylrot als Indicator. In der neutralen Lösung wird der Chloridgehalt durch Titration mit 0,1 n $AgNO_3$-Lösung unter Verwendung von 2 Tropfen 0,1%iger Dichlorfluoresceinlösung als Indicator ermittelt. Dann wird die Probe auf über 70 °C erhitzt. Für je 100 ml Lösung werden 2 ml einer 0,05%igen Lösung von Thymolphthalein in 70%igem Äthylalkohol hinzugefügt. Unter ständigem Rühren wird die Lösung mit carbonatfreier 0,1 n Natronlauge langsam bis zur Blaufärbung titriert. Ein jeweils zu bestimmender Blindwert (0—0,2 ml) muß abgezogen werden. Die Genauigkeit der Cadmiumbestimmung beträgt nach den mitgeteilten Analysenzahlen einige Hundertstel Prozente bei einem Gehalt von 40—60% Cd. K. Machner

[1] J. Indian chem. Soc. **33**, 222—224 (1956). Banaras Hindu Univ., Banaras (Ind.).

[2] Naturwissenschaften **43**, 197 (1956). Indian Inst. of Sugar Technol., Kanpur.

[3] Ramaiah, N. A., S. K. D. Agarwal und S. L. Gupta: Naturwissenschaften **43**, 325 (1956).

[4] Analyst **81**, 245—246 (1956). Univ. College, Auckland (Neu Seeland).

Quecksilber. *Einen empfindlichen Quecksilbernachweis mit Acetylformazylthiosemicarbazon, sowie Kupfer- und Palladiumnachweise mit Acetylformazyloxim* fand T. Dupuis[1] durch systematische Untersuchung der Reaktionen von Acetylformazyl und dessen Derivaten (Semicarbazon, Thiosemicarbazon, 2,4-Dinitrophenylhydrazon, Oxim) mit anorganischen Ionen. — *Tüpfelnachweis von Quecksilber mit Acetylformazylthiosemicarbazon.* Man versetzt auf der Tüpfelplatte 1 Tr. Probelösung mit 1 Tr. 4 n Salpetersäure und 1—2 Tr. Reagenslösung (gesätt. Lsg. in Alkohol). Ein roter Niederschlag zeigt Hg an. Die Nachweisgrenze beträgt 0,0495 μg/Tropfen in 1 n Salpetersäure (pD 5,9). Ag^{I}, Fe^{III}, Au^{III}, Pd^{II}, MoO_4^{2-}, WO_4^{2-}, VO_3^{3-}, SeO_4^{2-}, sind ebenfalls fällbar und stören; Cu, Co und Pt-Ionen reagieren zwar, beeinträchtigen den Nachweis jedoch nicht. — *Palladiumnachweis mit Acetylformazyloxim.* Man versetzt 1 Tr. Reagenslösung (eine gesättigte alkoh. Lsg. wird mit Alkohol bis zur halben Sättigungskonzentration verdünnt) mit 1 Tr. 5%iger Essigsäure + 1 Tr. Probelösung (p_H 1—3). Blaufärbung zeigt Pd an. Gleichzeitig wird ein Blindversuch mit 1 Tr. 0,1 n Salzsäure durchgeführt; die Nachweisgrenze auf der Tüpfelplatte beträgt 0,08 μg/Tropfen (pD 5,58). Von den ebenfalls anfärbbaren Ionen Au, Hg, Pt stören nur größere Mengen Platin. — *Kupfernachweis mit Acetylformazyloxim.* Auf Filtrierpapier werden 1 Tr. der neutralen oder schwach sauren Probelösung und 1—2 Tr. der alkoholischen Reagenslösung aufgetropft. Ein violetter Fleck auf orange Untergrund zeigt Kupfer an. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,05 μg/Tropfen (pD 5,78). Die Störung durch Nickel (Violettfärbung) läßt sich durch Auswaschen des Papiers mit 30%iger Essigsäure beseitigen. Gleichzeitig anwesendes Palladium stört; in Abwesenheit von Nickel kann aber der Nachweis neben Palladium bei p_H 7 geführt werden. Andere Metalle stören nicht. Der Cu-Nachweis ist also weitgehend selektiv. K. Gassner

Ch. Duval[2] hat hervorgehoben, daß die Reinigung amalgamierter Goldkathoden, wie sie bei der Elektrolyse zur analytischen Quecksilberbestimmung nach A. Verdino[3] anfallen, durch Erhitzen in der Bunsen-Flamme besser vermieden und dadurch ersetzt wird, daß die Elektroden 45 min im Luftbad oder im elektrischen Ofen bei höchstens 261° C gehalten werden. Sämtliches Quecksilber ist dann verdampft, jede Deformierung oder Veränderung der Elektrode aber sehr viel besser vermieden. K. Cruse

M. Bobtelsky und R. Rafaloff[4] beschreiben ein heteromotrisches[5] Bestimmungsverfahren, das auf der Titration mit 0,0028 m Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung bis zur maximalen optischen Dichte beruht. 0,3 bis 1,2 mg Hg als $Hg(NO_3)_2$ können in 20 ml Lösung erfaßt werden. Die Lösung kann essigsauer, neutral oder ammoniakalisch sein. Umgekehrt ist auch die Bestimmung von 0,5—1,0 mg des Carbaminats mit eingestellter $Hg(NO_3)_2$-Lösung möglich. Es bildet sich immer eine Verbindung, die auf 1 Hg-Atom 2 Diäthyldithiocarbaminatreste enthält. K. Brodersen

Nach einer weiteren Mitteilung von M. Bobtelsky und R. Rafaloff[6] ist die vorstehend beschriebene Bestimmungsmethode auch in stark ammoniakalischer,

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1415—1421. École nationale supérieure de Chimie, Paris.

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1433. École nationale supérieure de Chimie, Paris.

[3] Mikrochem. **6**, 5 (1928).

[4] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 247—252 (1956). Univ. Jerusalem (Israel).

[5] Über heterometrische Titrationen vgl. diese Z. **144**, 123—126 (1955) und spätere Veröffentlichungen von M. Bobtelsky u. Mitarb.

[6] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 339—343 (1956).

äthylendiamintetraacetat-(komplexon-)haltiger Lösung ohne Einbuße an Genauigkeit durchführbar. Durch ausreichenden Komplexonzusatz können große Mengen von zweiwertigen Metallen (außer Cu) und von mehrwertigen Metallen (Fe^{III}, Bi, Th) in Lösung gehalten werden. Sie stören dann die Hg-Bestimmung nicht. Der Analysenfehler beträgt 0—2%. — *Ausführung.* 20 ml Lösung mit 0,3—1,2 mg Hg und überschüssigen 2wertigen Metallen, Fe, Bi oder Th werden durch direkte heterometrische Titration mit 0,0028 n Na-Diäthyldithiocarbaminatlösung titriert. Die Lösung muß einen Überschuß an Komplexon und Ammoniak enthalten. Die Dauer der Titration beträgt 30—40 min. HILDEGARD PLUSKAL

Zur Analyse der Gemische von Borsäure, Eisen- und Aluminiumsalzen geben M. B. ŠČIGOL und N. B. BURČINSKAJA[1] folgende Methoden an: 1. *Lösungen, die frei von Mineralsäuren sind,* titriert man potentiometrisch an einer Platin/Platinschwarz-Indicatorelektrode mit 0,1 m $Na_2B_4O_7$-Lösung, wobei auf der Titrationskurve zwei Potentialsprünge zu beobachten sind. Der erste entspricht der Menge Eisen(III) (A ml), der zweite der Summe Eisen + Aluminium (B ml). Aluminium ergibt sich aus der Differenz. Eine zweite Probe wird mit der zur Bindung von Fe^{3+} und Al^{3+} gerade notwendigen Menge 0,1 n Boraxlösung (B ml) versetzt, dann fügt man Glycerin zu und titriert mit 0,1 n Natronlauge gegen Phenolphthalein als Indicator (Verbrauch C ml). Die Differenz C—2 B ist gleich der Menge freier Borsäure (in Millilitern 0,1 n Lösung) in der Probe (1 ml 0,1 n $Na_2B_4O_7$ ist äquivalent 2 ml 0,1 n H_3BO_3-Lösung). — *In Lösungen, die außer Eisen, Aluminium und Borsäure auch freie Mineralsäure enthalten,* versetzt man eine Probe mit dem 10fachen Überschuß an 0,1 n $Na_2C_2O_4$-Lösung und titriert mit 0,1 n NaOH-Lösung gegen Methylrot als Indicator die freie Mineralsäure. In einer weiteren Probe titriert man wie oben potentiometrisch mit 0,1 n Boraxlösung. Der erste Potentialsprung entspricht der Summe Eisen + freier Mineralsäure, der zweite Potentialsprung der Summe Eisen + Aluminium + freier Mineralsäure. Zur Bestimmung der freien Borsäure fügt man der Lösung soviel 0,1 n Boraxlösung zu als der Summe Eisen + Aluminium + freier Mineralsäure entspricht (D ml) und titriert nach Glycerinzusatz mit 0,1 n Natronlauge gegen Phenolphthalein (E ml). Die freie Borsäure entspricht der Differenz E—2 D. — Nach den mitgeteilten Analysenergebnissen von synthetischen Mischungen gibt das Verfahren genaue Resultate. MARTHA WILDAU

Zur Bestimmung von Perborat schlagen F. CAPITÁN-CARCÍA und M. LACHICA-GARRIDO[2] auf Grund ihrer spektrophotometrischen Studien an Chrom(III)-sulfatlösungen[3] folgende *Methode* vor: In einem 50 ml-Kölbchen gibt man zu 5 ml einer etwa 1 n Kaliumdichromatlösung 3 ml konz. Schwefelsäure. Man wäscht mit dest. Wasser nach, kühlt auf Zimmertemperatur ab und versetzt mit der zu untersuchenden Lösung, die mindestens 60 mg in 100 ml an $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ enthalten soll. Man schüttelt bis die Gasentwicklung aufhört, füllt mit Wasser auf und bestimmt die Extinktion bei einer Wellenlänge von 590 mμ. Mit Hilfe einer Eichkurve wird dann der Gehalt ermittelt. — Die Reihenfolge der Reagenszugabe muß eingehalten werden, die Schwefelsäurekonzentration soll zwischen 1,1 und 2,5 m liegen, die Farbe der Lösungen ist mindestens 60 min stabil. Das BEERsche Gesetz ist in Lösungen mit 0—500 mg in 100 ml an $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ erfüllt. Der relative Fehler liegt zwischen 0 und 3%. IRMGARD PFITZER

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 106—110 (1956) [Russisch]. Med. Inst. Kiev.

[2] An. Real. Soc. espaň. Física Quím., Ser. B, **52**, 265—270 (1956). Estación Experim. del Zaidin, Granada (Spanien).

[3] CAPITÁN-GARCÍA, F., und M. LACHICA-GARRIDO: An. Real. Soc. espaň. Física Quím., Ser. B, **52**, 237 (1956); vgl. diese Z. **154**, 366 (1957).

Zur Analyse von Bortribromid und dessen Additionsverbindungen mit organischen Substanzen haben W. J. Schuele, J. F. Hazel und W. M. McNabb[1] nach Hydrolyse und Entfernung der organischen Stoffe mit Hilfe eines Ionenaustauschers die entstandene Bor- und Bromwasserstoffsäure mit Natronlauge nach 4 verschiedenen Methoden bestimmt. Die Verff. haben potentiometrische, konduktometrische, spektrophotometrische und visuelle acidimetrische Titrationen mit Säure-Base-Indicatoren ausgeführt. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß potentiometrische oder spektrophotometrische Titrationen die gleiche Genauigkeit ergeben, daß aber spektrophotometrische Titrationen weniger Zeit beanspruchen. Zu den spektrophotometrischen Bestimmungen verwenden die Verff. einen Mischindicator, bestehend aus 40 ml-Methylrot- und 15 ml Methylenblauindicatorlösung der üblichen Konzentrationen. Man führt während der Titration die Absorptionsmessung bei 532,5 mμ durch. Die Borsäuretitration wird wie üblich unter Mannitzusatz durchgeführt. Die visuellen Titrationen liefern zu hohe Werte für Borsäure, bei den konduktometrischen Analysen sind die Werte weniger gut reproduzierbar als bei den anderen Methoden. K. Brodersen

Aluminium. *Zur maßanalytischen Bestimmung von Aluminium* empfiehlt R. M. Paul[2] das von M. Theis[3] angegebene komplexometrische Verfahren mit Chromazurol S als Indicator. Die Durchführung der Analyse geschieht nach der von Theis gegebenen Vorschrift mit 0,05 m KomplexonIII-lösung. Zur Bestimmung von Al-Mengen unter 0,5 mg verwendet man eine 0,005 m Maßlösung. Störende Fe^{3+}-Ionen werden durch Fällung mit Natronlauge oder Reduktion mit Hydrazinsulfat beseitigt. Das Verfahren von Theis läßt sich bei gleich guten Ergebnissen wesentlich schneller durchführen als die von C. H. R. Gentry und L. G. Sherrington[4] vorgeschlagene colorimetrische Methode. K. Machner

T. Gaspar y Arnal und J. Miner Liceaga[5] berichten nochmals ausführlich über bereits veröffentlichte *gravimetrische Bestimmungsverfahren von Aluminium und Eisen(III)*, die auf der quantitativen Fällung der beiden Metalle mit Natriumsulfit in einer 50—60%ig. Äthanol enthaltenden Lösung und der schließlichen Wägung als $Al_2(SO_4)_3$ bzw. $Fe_2(SO_4)_3$ beruhen[6]. Wie die Verff. jetzt mitteilen, sind die Verfahren auch zur Trennung des Eisens oder Aluminiums von Mn^{II}, Zn, Cd und Cu^{II} geeignet. Um die zweiwertigen Metalle in Lösung zu halten, setzt man viel Chlorammonium zu (10—15 ml 25%iger NH_4Cl-Lösung). Doppelte Fällung ist zweckmäßig. Mangan soll als Chlorid vorliegen. — Anschließend beschreiben die Verff. eine Modifikation des bekannten Ammoniumcarbonatverfahrens zur Eisen-Mangantrennung. Die Abänderung besteht darin, daß auch hier in einem 50—60%ig. Äthanol enthaltenden Milieu gearbeitet wird. Die Metalle sollen als Chloride vorliegen. Zur vollständigen Trennung ist doppelte Fällung notwendig. A. Kurtenacker

Seltene Erden. *Die quantitative Trennung von Ceriterden durch Ionenaustausch* ist nach L. Holleck und L. Hartinger[7] mit Hilfe von Nitrilotriessigsäure bei

[1] Analyt. Chemistry **28**, 505—507 (1956). Univ. Philadelphia, Pa. (USA).
[2] Biochemic. J. **62**, 38 P (1956). Postgraduate Medical School, London, W. 12.
[3] Diese Z. **144**, 106 (1955).
[4] Analyst **71**, 432 (1946); vgl. diese Z. **128**, 331 (1948).
[5] Chim. analytique **38**, 237—243 (1956). Univ. Valladolid (Spanien).
[6] Gaspar y Arnal, T., und J. Miner Liceaga: An. Real. Soc. españ. Física Quím. **46**, Ser. B. 23, 299 (1950); vgl. diese Z. **135**, 418, 442 (1952).
[7] Angew. Chem. **68**, 411—412 (1956). Hochschule Bamberg.

bestimmten p_H-Werten möglich. In einer Säule von 55 cm Länge und 11 mm Durchmesser mit Nalcite HCR, NH_4-Form, Korngröße 0,25—0,5 mm, werden Ceriterden (ohne Ce) mit 0,5%iger Nitrilotriessigsäure bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 0,5 cm/min quantitativ getrennt. Auf Grund einer Kurve (siehe Original) wird Nd bei p_H 3,75 eluiert, während für Pr p_H 4,17 erforderlich ist. Es sind außerdem die p_H-Werte ermittelt worden, bei denen die Ceriterden gerade durchbrechen, nämlich La bei 4,20, Pr bei 3,80, Nd bei 3,75 und Sm bei 3,50.

Zur Trennung geringer Mengen Seltener Erden (SE) aus Uran-Spaltungsprodukten verwenden L. Hartinger und L. Holleck[1] den Kationenaustauscher (Nalcite HCR) in der Korngröße von 0,25—0,5 mm in einer Säule von 59 cm Länge und einem Durchmesser von 0,6 cm. Die Trennung erfolgt mit Hilfe von Nitrilotriessigsäure bei p_H 4,14—4,20. Das Gemisch der SE aus der Uranspaltung, aus dem das Ce vorher entfernt ist, wird mit 10 mg Trägerzusatz auf die Säule gebracht. Yttrium, Samarium (Prometheum), Neodym und Praseodym werden quantitativ getrennt. R. Klement

Eine photometrische Methode zur Bestimmung von Samarium in Ceriterdengemischen wurde von R. Rasin-Streden, W. Dauschan und O. Zemek[2] ausgearbeitet. Von den Hauptabsorptionsbanden des gelösten Samariumchlorids wird die Bande mit einer Spitze bei 4016 Å nur durch größere Mengen Er und Eu gestört, jedoch sind diese beiden Elemente in den Ceriterden meist nicht, oder nur in sehr geringer Menge enthalten. Verwendet wurde die Hg-Linie 4047 Å mit Filter Hg Cd 405. Das Beersche Gesetz gilt nicht. Die Lösungen müssen völlig blank und frei von Eisen(III) sein. Dieses wird nach Zusatz von Rhodanid in einem eigens dafür konstruierten Doppelwegscheidetrichter mit Äther aus 2 n salzsaurer Lösung ausgeschüttelt. Das Wasserstoffperoxyd, mit dem vorher Fe^{II} oxydiert und Ce^{IV} reduziert wird, muß wieder vollständig entfernt werden, was durch Kochen bei Gegenwart eines Platinnetzes gelingt. Der Gehalt des Oxydgemisches an Sm_2O_3 muß mindestens 1% betragen, die absoluten Fehler liegen je nach Menge zwischen 1 und 2,5%. — *Ausführung.* 5 g des Oxydgemisches (durch Verglühen der Oxalate dargestellt) löst man in Salzsäure, dampft bis zur beginnenden Kristallisation ein, versetzt mit 20 Tr. 3%igem Wasserstoffperoxyd und kocht auf ein kleines Volumen ein, wobei man ein Platinnetz in die Lösung bringt. Dann fügt man soviel konz. Salzsäure hinzu, daß die Lösung nach Zugabe von 10 ml 50%iger NH_4SCN-Lösung gerade 2 n daran ist, schüttelt 3 mal mit je 20 ml Äther aus, wobei vor dem 2. Ausschütteln noch einmal 5 ml Rhodanidlösung zugesetzt werden. Wenn der 3. Ätherauszug noch rosa ist, muß ein weiteres Mal extrahiert werden. Die wäßrige Lösung füllt man im 50 ml-Meßkolben zur Marke auf, filtriert und photometriert mit 5 cm Schichtdicke im Pulerich-Photometer wie oben angegeben. Die Werte entnimmt man einer Eichkurve. G. Denk

Zirkonium, Thorium. S. K. Datta[3] untersucht die Anwendbarkeit einiger aromatischer Oxysäuren, nämlich *Salicylsäure* (I), *5-Nitrosalicylsäure* (II), *5-Bromsalicylsäure* (III), *5-Aminosalicylsäure* (IV), *β-Resorcylsäure* (V), *5-Bromresorcylsäure* (VI) und *Gallussäure* (VII) als Fällungsmittel für die Bestimmung von Zr und Th. Gallussäure (VII) fällt beide Metalle sehr unvollständig. Mit allen anderen Säuren wird Thorium bei p_H 4 und höheren p_H-Werten quantitativ abgeschieden. Zirkonium fällt im p_H-Bereich 2—4 mit I, II, V, VI quantitativ. Mit III und IV

[1] Angew. Chem. **68**, 412 (1956).

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 512—521. Treibacher Chemische Werke A.-G., Treibach, Kärnten (Österreich).

[3] J. Indian chem. Soc. **32**, 687—693 (1955). Government College, Darjeeling.

erfolgt nur im Bereich p_H 3,2—4 vollständige Abscheidung. Durch doppelte Fällung mit II oder V kann Zr quantitativ von Th getrennt werden. Trennung des Thoriums von den Seltenen Erden wird durch doppelte Fällung mit I, II, III, V und VI bei p_H 4 erreicht. Mit dem Reagens II gelingt die Trennung selbst von der 26fachen Menge der Seltenen Erden. Bei der *Th-Bestimmung in Monazitsand* kommt man bei Anwendung von Reagens II mit einfacher Fällung aus. — Th und Zr können ferner durch doppelte Fällung mit II, III, V, VI von Al, Cr, Co, Ba, Ca, U und anderen Metallen getrennt werden. Fe hält man durch Zugabe von Rhodanid, Ti durch H_2O_2 in Lösung. Die Niederschläge von Zr und Th mit den Reagentien haben keine bestimmte Zusammensetzung. Zur Wägung müssen sie daher in die Oxyde übergeführt werden. — *Ausführung.* Man neutralisiert die zu untersuchende Lösung gegen Kongorot, bringt mit Ammoniumacetatpuffer auf den gewünschten p_H-Wert, erhitzt auf etwa 90° C, fügt heiße 2%ige Reagenslösung (oder 0,1%ige Lösung der schwer löslichen β-Resorcylsäure) bis zur vollständigen Fällung zu, läßt 10 min stehen, filtriert, wäscht den Niederschlag mit heißem Wasser, trocknet, glüht und wägt als Oxyd. A. Kurtenacker

Weitere Untersuchungen von S. K. Datta[1] beziehen sich auf die Anwendbarkeit von *1-Hydroxy-2-naphthoesäure* und ihrer *Nitro- und Bromderivate (1-Hydroxy-4-nitro-2-naphthoesäure* und *1-Hydroxy-4-brom-2-naphthoesäure)* als Fällungsreagentien. Die Herstellung der Stoffe wird beschrieben und es werden kurze Angaben über das Verhalten gegenüber verschiedenen Metallsalzen gemacht. Die Verbindungen fällen *Zirkonium* (und auch *Thorium*) quantitativ bei p_H 4,58 und erlauben die Trennung des Zirkoniums von einer Anzahl gebräuchlicher Elemente wie Ca, Ba, Sr, Al, Zn, Mg, Ti usw. durch einfache Fällung. Bei Gegenwart von Fe, Co, Ni und U muß der Niederschlag umgefällt werden. — *Arbeitsweise.* Die Zirkoniumlösung wird gegen Kongorot neutralisiert, bis fast zum Sieden erhitzt und mit einem geringen Überschuß an Fällungsreagens versetzt. Man verwendet eine heiße, 0,5%ige Lösung von 1-Hydroxy-2-naphthoesäure oder eine kalte, 2%ige Lösung ihres Natriumsalzes oder heiße, 1%ige Lösungen ihrer Nitro- und Bromderivate. Beim Hinzufügen von etwa 1 ml 2%iger Ammoniumacetatlösung setzt die Fällung ein. Es entsteht ein weißer, flockiger Niederschlag (die Nitro- und Bromderivate liefern gelbe bzw. braune gelatineartige Niederschläge), der sich beim weiteren Erhitzen zusammenballt und auf dem Boden des Bechers sammelt. Die Lösung soll auf keinen Fall gekocht werden. Anschließend wird der Niederschlag filtriert, einige Male mit heißem Wasser ausgewaschen, getrocknet, verascht und bis zur Gewichtskonstanz geglüht. - Von den genannten Fällungsreagentien eignet sich 1-Hydroxy-4-brom-2-naphthoesäure am besten zur Bestimmung von Zirkonium; sie gibt im p_H-Bereich 3,6 – 5,5 genaue Zr-Werte. K. Machner

V. I. Kuznecov, L. M. Budanova und T. V. Matrosova[2] berichten über die *colorimetrische Zirkoniumbestimmung mit dem Arsenazoreagens. Reine Lösungen* (aliquoter Anteil mit nicht über 0,2 mg Zr, salz- oder salpetersauer) werden bis auf 0,08—0,1 n angesäuert (berechnet auf das Endvolumen). Falls der Säuregrad unbekannt ist, gibt man 5—10 mg Al als Chlorid und Ammoniak bis zur Trübung zu, löst die Trübung in 1—2 Tropfen Salzsäure und versetzt mit 10 ml n Salzsäure. Zur Stabilisierung werden 5 ml 0,5%ige Gelatinelösung und dann genau 5 ml 0,02%ige wäßrige Arsenazolösung zugefügt [Arsenazo = Benzol-2-arsonsäure-(1-azo-7)-1,8-dioxynaphthalin-3,6-disulfonsäure]. Die violette Farbe wird mit Gelbfilter colorimetriert, der Zr-Gehalt aus der Eichkurve ermittelt. — *Aluminium- und Magnesiumlegierungen.* Man löst 1 g mit nicht weniger als 0,05 mg

[1] J. Indian chem. Soc. **33**, 257—260 (1956).

[2] Zavodskaja Laborat. (Betriebslab.) **22**, 406—412 (1956) [Russisch].

Zr in 25 ml verd. Salzsäure (1:1), beseitigt eine Trübung durch Zutröpfeln von Salpetersäure und verkocht die Stickstoffoxyde. Zu einem aliquoten Teil der Lösung werden einige Tropfen gesättigte 2,6-Dinitrophenollösung und tropfenweise 10%iges Ammoniak bis zur Gelbfärbung zugesetzt (oder statt Dinitrophenol ein Stückchen Kongopapier, dann Schütteln nach jedem NH_3-Tropfen und $^1/_2$ min warten). Nach Zusatz der obengenannten Mengen Gelatine- und Arsenazolösung wird mit Gelbgrünfilter (durchlässig im Gebiet 550—572 mμ) colorimetriert; der Zr-Gehalt kann aus der Eichkurve ermittelt werden oder indem man 1,5 ml einer $AlCl_3$-Lösung (10 mg Al/ml) zu einer Blindlösung zufügt und mit einer Zr-Lösung bis zur gleichen Farbstärke titriert. — Hafnium gibt dieselbe Färbung wie Zr, Titan wird rotviolett. Bis zum Verhältnis Ti:Zr = 5:1 kann Zr bestimmt werden, wenn man die Blindprobe mit derselben Ti-Menge versetzt. Al, K, Ca, Mg, Mn, Na, Zn, auch Bi, Fe^{2+}, Co, Cu, Ni, Sn^{IV}, Cr^{III}, Ce^{3+}, Fe^{3+} (bis Fe:Zr 100:1) stören nicht; alkalische Niobate und Tantalate geben beim Ansäuern violette Niederschläge. Dauer einer Bestimmung (nach Auflösen der Probe) beträgt 15—20 min. A. v. Wilpert

Hydrazin. Zur Bestimmung von Hydrazin schlagen F. Capitán-García und M. Lachica-Garrido[1] in Anwendung ihrer spektrophotometrischen Studien an Chrom(III)-sulfatlösungen[2] folgende *Methode* vor. In ein 50 ml-Meßkölbchen gibt man 5 ml einer etwa 1 n Kaliumdichromatlösung und 3 ml konz. Schwefelsäure. Man spült mit Wasser nach, kühlt, versetzt mit der zu untersuchenden Lösung, die mindestens 7 mg/100 ml an Hydrazin enthalten soll, schüttelt, füllt mit Wasser auf und mißt die Extinktion innerhalb 90 min bei 590 mμ. An Hand einer Eichkurve wird der Hydrazingehalt ermittelt. — Die Reihenfolge der Reagenszugabe muß eingehalten werden, die Säurekonzentration kann von 0,4—2,5 n variieren. Das Beersche Gesetz ist bis zur Hydrazinsulfatkonzentration 226 mg/100 ml erfüllt. Die Methode ist sehr genau. Irmgard Pfitzer

Über die polarographische Bestimmung von Hydrazin, 1,1-Dimethylhydrazin und Methylhydrazin als Benzaldehydderivate berichten G. C. Whitnack, J. E. Young, H. H. Sisler und E. St. Clair Gantz[3] im Zusammenhang mit eingehenden Untersuchungen über das polarographische Verhalten dieser Hydrazone. Benzalazin (I) liefert in alkalischer Lösung und mit 0,12 m Tetrabutylammoniumhydroxyd als Leitsalz (mit Phosphorsäure auf etwa p_H 11 eingestellt) zwei gut reproduzierbare irreversible Diffusionsstromstufen. In sauren Lösungen treten Maxima und sogar drei Stufen auf, die weniger gut reproduzierbar sind. In Dimethylhydrazonlösungen (II) ist die Höhe der Reduktionsstufe bei — 1,90 V und bei p_H 11 im Bereich $2 \cdot 10^{-4}$ –$3 \cdot 10^{-3}$ m der Konzentration linear proportional. In Methylhydrazonlösungen (III) werden über den p_H-Bereich 3—12 drei Stufen beobachtet, deren Höhe infolge hydrolytischer Reaktion zeitabhängig ist. Bei Abwesenheit von III können I und II in alkalischer Lösung auch im Gemisch analysiert werden, da die erste Stufe für den Gehalt an Benzalazin verantwortlich ist, die zweite die Summe beider Hydrazone liefert. — *Arbeitsvorschrift.* Die Polarographie erfolgt in 75%iger äthanolhaltiger 0,5 m Tetrabutylammoniumbromidlösung, die mit Phosphatpufferlösung (0,12 m Tetrabutylammoniumhydroxyd und Phosphorsäure) auf einen scheinbaren p_H-Wert 11,5 gepuffert ist. Der Fehler liegt bei 1,24%. — Der Mechanismus der Reaktion ist ebenfalls erörtert. K. Cruse

[1] An. Real. Soc. españ. Física Quím., Ser. B, **52**, 251—256 (1956). Estación Experim. del Zaidin, Granada (Spanien).

[2] Capitán-García, F., und M. Lachica-Garrido: An. Real. Soc. españ. Física Quím., Ser. B, **52**, 237 (1956); vgl. diese Z. **154**, 366 (1957).

[3] Analyt. Chemistry **28**, 833—836 (1956). U.S. Naval Ordnance Test Station, China Lake, Calif. (USA).

Nitrat. R. Pietsch[1] beschreibt einen empfindlichen Nitratnachweis, der auf der Nitrierung von Phenarsazinsäure zu gelber p-Nitrophenarsazinsäure beruht. Mit Alkalilauge entsteht eine rote chinoide Verbindung. In 15 ml Lösung lassen sich noch 30 μg Nitrat-Ion, beim Arbeiten mit festem NaOH noch 3 μg NO_3^- nachweisen. Von Fremd-Ionen müssen Fe^{2+} und S^{2-} abwesend sein, BrO_3^- stört auch sehr, ClO_3^- darf in 1facher, SCN^-, CrO_4^{2-}, VO_4^{3-}, $S_2O_3^{2-}$, $S_2O_8^{2-}$ dürfen in doppelter, H_2O_2 in 10facher Menge zugegen sein. Viele andere Anionen und Kationen beeinträchtigen den Nachweis nicht. — *Ausführung.* Man versetzt 1 ml der zu prüfenden Lösung mit 1 ml alkalischer 0,3%iger Reagenslösung, unterschichtet mit 1—1,5 ml konz. Schwefelsäure und mischt. Weiteres Erhitzen ist meist nicht nötig. Man kühlt die gelbe Lösung rasch ab und setzt NaOH-Plätzchen zu oder unterschichtet mit konz. Alkalilauge, die sich rasch rot färbt. Die letzte Arbeitsweise ist besonders für gefärbte Lösungen zu empfehlen. A. Kurtenacker

Phosphorsäure. H. Eschmann und R. Brochon[2] beschreiben nochmals ihr bereits früher[3] mitgeteiltes komplexometrisches Verfahren zur Bestimmung der Phosphorsäure, bei welchem die Störungen durch Eisen und Aluminium beseitigt werden, indem man die beiden Metalle in Form ihrer Kupferronate extrahiert. Weitere störende Metalle (Cu, Co, Ni) werden durch Komplexonzusatz maskiert. Das Verfahren kann als Mikrobestimmung von 0,5—20 mg Phosphorsäure verwendet werden. — *Vorschrift.* Man dampft eine etwa 0,5 n salzsaure Lösung auf 5—10 ml ein, fügt bis p_H 5 (Methylrot) 1 n Ammoniaklösung und anschließend 1 ml 1 n Salzsäure hinzu und überführt zusammen mit 20 ml Äther in einen Scheidetrichter. Nun fügt man so lange wiederholt Kupferronlösung (31 g/Liter) hinzu, bis in der wäßrigen Phase kein Niederschlag mehr entsteht, und schüttelt in die organische Phase aus. Dann wäscht man die Ätherphase 3mal mit 3 ml-Anteilen Wasser, verkocht den Äther in der mit der Waschflüssigkeit vereinigten wäßrigen Phase, kühlt und verdünnt auf 50 oder 100 ml mit Wasser. Einen 5 ml-Anteil dieser Lösung versetzt man mit 0,5 ml 0,1 n $MgSO_4$-Lösung und 100 ml Wasser, neutralisiert mit Ammoniak gegen Methylrot, fügt 5 ml NH_3/NH_4Cl-Pufferlösung (p_H 10) und 10—30 mg Eriochromschwarz T-Indicatorpulver (1 g + 100 g NaCl) hinzu und titriert die störenden Metall-Ionen mit 0,1 n Komplexon-(EDTA)-Lösung (37,23 g/Liter). Bei Anwesenheit von Cu, Co und Ni verwendet man einen Überschuß an EDTA-Lösung und titriert mit 0,1 n $MgSO_4$-Lösung zurück. Zur Komplexbildung versetzt man einen 20 ml-Anteil der aufgefüllten Lösung mit 5 ml 0,1 n $MgSO_4$-Lösung, 0,5 ml 90%iger Milchsäure und dem 4fachen der vorher verbrauchten Menge 0,1 n EDTA-Lösung. Unter magnetischem Rühren fügt man 1 n Ammoniaklösung bis zum Umschlag des Methylrots nach Gelb hinzu und fällt nach Zugabe von 2—3 Tropfen Phenolphthalein die Phosphorsäure durch 5%ige Aminoäthanollösung (ca. 5 ml; Indicator Dunkelrot) als $MgNH_4PO_4 \cdot 6\,H_2O$. Nach 20—30 min Stehen filtriert man den Niederschlag durch einen Filtertiegel, wäscht 3mal mit je 10 ml Waschflüssigkeit (5 g NH_4Cl + 80 ml konz. Ammoniak in 1 Liter Wasser) und löst erneut in 5 ml heißer 1 n Salzsäure. Man wäscht den Tiegel mit 20 ml Wasser, 5 ml heißer 1 n Salzsäure und 3 kleinen Anteilen von heißem Wasser. Dann versetzt man die Lösung mit 25 ml 0,01 n EDTA-Lösung, 20 ml 2 n Ammoniaklösung und 10—30 mg Eriochromschwarz T-Indicator und titriert den Überschuß an EDTA-Lösung mit 0,01 n $MgSO_4$-Lösung zurück.

Hildegagd Pluskal

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1490 - 1494. Univ. Graz (Österreich).

[2] Chemist-Analyst **45**, 38—39 (1956). Cantonal Labor., Bern, Schweiz.

[3] Eschmann, H., und R. Brochon: Chimia **10**, 58 (1956); vgl. diese Z. **154**, 144 (1957).

Arsen. Nach I. M. Issa und I. M. el Sherif[1] kann man Arsen(III) bestimmen, indem man mit *alkalischer Permanganatlösung* in Gegenwart von Tellursäure oxydiert und den Überschuß des Oxydationsmittels mit Thallium(I)-salzlösung potentiometrisch zurücktitriert. Unabhängig von der Laugekonzentration wird Mn^{VII} dabei quantitativ zu Mn^{IV} reduziert. Noch 1 mg As läßt sich mit einer Genauigkeit von $\pm 0.5\%$ bestimmen. Die Titration kann mit etwas geringerer Genauigkeit in 2 n bis 3 n Natronlauge auch in Abwesenheit von Tellursäure durchgeführt werden. Auch in diesem Falle erfolgt Reduktion des Permanganats zu MnO_2. Sind Barium-Ionen in dreifachem Überschuß gegenüber dem MnO_4^- zugegen, so bleibt in 0,02 n Arsenitlösung und n Alkalilauge die Reduktion des Permanganats bei der Manganatstufe stehen[2]. K. Brodersen

In einer weiteren Mitteilung berichten I. M. Issa und I. M. el Sherif[3] nochmals über die *potentiometrische Titration von arseniger Säure mit Permanganat in alkalischen Lösungen*. $KMnO_4$ wird durch Arsenitlösungen in alkalischer Lösung zu MnO_2 reduziert. Die Reaktion ist aber nicht quantitativ und sehr abhängig von der Alkalikonzentration und der Konzentration der Reaktionsteilnehmer. Es tritt leicht eine Reduktion bis zum Mn_2O_3 ein. Für analytische Zwecke ist die Reaktion bei Gegenwart von Tellursäure brauchbar, da diese mit 4wertigem Mn einen löslichen Komplex bildet, der die weitere Reduktion zu Mn^{III} verhindert. Für 1,5 Mole Arsenit wird 1 Mol Tellursäure benötigt. Ein Überschuß schadet aber nichts. Für 0,1 n Lösungen der Reaktionsteilnehmer kann die Alkalikonzentration zwischen 0,1 und 1,75 n liegen. Bei geringeren Konzentrationen treten jedoch in stärker alkalischen Lösungen ($> 0{,}1$ n) Fehler auf. Die Methode kann als Mikromethode zur Bestimmung von As_2O_3 verwendet werden. Man führt die potentiometrische Titration in 0,1 n Natronlauge bei Gegenwart von 0,1 g Tellursäure durch und kann Mengen bis herab zu etwa 40 μg As_2O_3 mit einem durchschnittlichen Fehler von 1% bestimmen. Mit etwas größeren Fehlern wurden (durch Titration mit 0,0002 n $KMnO_4$-Lösung) noch As_2O_3-Mengen bis zu 2 μg bestimmt.

Hildegard Pluskal

Selen. Tellur. *Zur Bestimmung kleiner Mengen* empfehlen A. Jílek, J. Vřešťál und J. Havíř[4] ein photometrisches Verfahren unter Verwendung von Thioharnstoff. Selen wird in der Wärme mit Thioharnstoff quantitativ ausgefällt und zentrifugiert. Tellur kann in der überstehenden gelben Lösung direkt photometriert werden. Sehr kleine Mengen Tellur werden nach dem 10mal empfindlicheren $SnCl_2$-Verfahren bestimmt. Den Selenniederschlag löst man in Bromsalzsäure und colorimetriert das Selen in der Lösung nach Reduktion mit Hydrogensulfit. Die Genauigkeit der Resultate ist für praktische Zwecke ausreichend. - *Ausführung.* Man versetzt genau 5 ml der je 0,1 –1 mg Se^{IV} und Te^{IV} enthaltenden Probe im Zentrifugierröhrchen mit genau 5 ml einer gesättigten Lösung von Thioharnstoff in 0,8 n Perchlorsäure, erhitzt 5 min in kochendem Wasser und zentrifugiert nach dem Abkühlen 10 min lang bei 2400 U/min. In der klaren Lösung, die das gesamte Tellur enthält, wird die Extinktion im Pulfrich-Photometer mit Filter S 42 gemessen und an Hand einer Eichkurve ausgewertet. Wenn die Lösung nur schwach gelb gefärbt ist, versetzt man 5 ml davon mit 5 ml 0,25%igem Gummi arabicum enthaltender $SnCl_2$-Lösung in 17%iger Chlorwasserstoffsäure.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 300–305 (1956). Univ. Cairo (Ägypten).

[2] Issa, I. M., and R. M. Issa: Anal. chim. Acta **13**, 323 (1955); vgl. diese Z. **152**, 284 (1956).

[3] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **75**, 447–452 (1956). Univ. Cairo.

[4] Chem. Zvesti **10**, 110–115 (1956) [Tschechisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Militärtechn. Akad. Brünn (ČSR).

Man mißt auch hier mit Filter S 42 und entnimmt den Te-Gehalt einer unter den gleichen Bedingungen gewonnenen Eichkurve. Das LAMBERT-BEERsche Gesetz ist für beide Bestimmungsmethoden erfüllt. Die Fällung des Selens wird mit 3—5 ml des mit Wasser im Verhältnis 1 : 1 verdünnten Fällungsreagenses durchgerührt, zentrifugiert, mit 5 ml Wasser durchgerührt, nochmals zentrifugiert und dann in einem 50 ml-Meßkolben in 3 ml mit Brom gesättigter konz. Salzsäure gelöst. Nach Zugabe von 2 ml 2%iger Gummi arabicum-Lösung entfärbt man mit gesättigter $NaHSO_3$-Lösung, gibt 0,5 ml davon im Überschuß zu, versetzt noch mit 1 g Hydroxylaminhydrochlorid und 20 ml konz. Salzsäure, füllt nach gründlichem Durchmischen zur Marke auf, photometriert 15 min später mit Filter S 42 und wertet nach der Eichkurve aus. A. KURTENACKER

Papierelektrophorese von Seleno- und Telluro-Thionaten. H. W. WOOD[1] hat frühere Versuche zur Papierelektrophorese von *Thionat-Ionen*[2] auch auf *Seleno-* und *Tellurothionate* ausgedehnt und folgende Reihe von Beweglichkeiten (bezogen auf das Thiosulfat-Ion) angegeben: *Trithionat* 0,92, *Selenodithionat* 0,88, *Tetrathionat* 0,83, *Pentathionat* 0,77, *Selenotetrathionat* 0,75 und *Tellurotetrathionat* 0,70. K. CRUSE

Die Bestimmung von Tellur neben einigen anderen Elementen beschreiben J. LAUTARD und L. PATEAU[3]. *Te-Pb.* Die salpetersaure Lösung wird mit Natronlauge neutralisiert und das Blei mit Natriumsulfid gefällt. Das Filtrat wird mehrmals mit Salzsäure abgeraucht und schließlich wird aus 1 n salzsaurer Lösung das Tellur mit SO_2 zum Element reduziert. — *Te-Bi.* Wismut wird aus salpetersaurer Lösung mit Ammoniumcarbonat bei Gegenwart von etwas H_2O_2 als basisches Carbonat abgeschieden, mit 5%iger Ammoniumcarbonatlösung gewaschen und bei 750 bis 800° C zum Oxyd verglüht. Im Filtrat wird Tellur durch Titration mit $K_2Cr_2O_7$-Lösung ermittelt, wobei Te^{IV} in Te^{VI} übergeht. In stark schwefelsaurer Lösung kann diese Titration auch bei Gegenwart von Wismut ausgeführt werden. — *Te-Hg.* Die salpetersaure Lösung wird mit 20%iger Natronlauge neutralisiert und das gebildete HgO sofort wieder mit Essigsäure gelöst. Der p_H-Wert soll bei etwa 5,5 liegen, wobei sich in 4—6 Std TeO_2 abscheidet. Der Niederschlag wird filtriert, mit 2%iger Essigsäure gewaschen und in konz. Schwefelsäure gelöst. Nach dem Erkalten wird die klare Lösung so stark verdünnt, daß sie etwa 3 n an H_2SO_4 ist und mit einem geringen Überschuß eingestellter 0,1 n Kaliumdichromatlösung versetzt. Nach 1 Std wird mit einer 0,1 n Lösung von MOHRschem Salz gegen Diphenylaminsulfat als Indicator zurücktitriert. Zur Bestimmung des Quecksilbers neutralisiert man das eingeengte Filtrat mit 0,1 n Natronlauge gegen Phenolphthalein, versetzt mit einem Überschuß an 50%iger KJ-Lösung und titriert das frei gewordene Alkalihydroxyd mit 0,1 n Schwefelsäure gegen Phenolphthalein. — *Te-Cd.* Das Tellur wird ebenso wie bei Hg-Te abgetrennt. Die *Bestimmung des Cadmiums* erfolgt gravimetrisch in Form des Komplexes $[CdJ_4]$ $(Pym)_2$ (Pym = Pyramidon). Man versetzt das Filtrat vom Tellurniederschlag mit 2 g KJ und fällt bei 30° C mit 15 ml Reagenslösung (40 g Pyramidon + 100 ml Eisessig + 100 ml H_2O). Der Niederschlag wird durch Erwärmen auf höchstens 60° C wieder gelöst. Beim langsamen Abkühlen scheidet er sich erneut und zwar in stöchiometrischer Zusammensetzung ab. Er bleibt bei 20° C über Nacht stehen, wird dann durch Filtertiegel Nr. 4 filtriert, erst mit dem Filtrat nachgespült, dann mit einer Lösung aus 40 ml Fällungslösung, 5 g KJ und 500 ml Wasser und schließlich 4mal mit Äther ge-

[1] Chem. and Ind. **1956**, 468—469. Res. Lab. Ilford, Ltd., Ilford (England).
[2] WOOD, H. W.: J. phot. Sci. **2**, 154 (1954).
[3] Chim. analytique **38**, 158—160 (1956). Lab. de la Division R. P. C. du C. N. E. T.

waschen und 1 Std bei 70° C getrocknet (Faktor 0,1032). — *Te-Se-S-Cu-Ag.* Die Probe wird mit rauchender Salpetersäure unter Erwärmen gelöst. Nach dem Verdünnen mit Wasser wird das Silber bei Siedetemperatur mit Salzsäure gefällt. Das Filtrat wird nach Zugabe von Salzsäure und Natriumchlorid eingedampft, mit 9 n Salzsäure wieder aufgenommen und nahe bei Siedetemperatur mit dem gleichen Volumen einer 15%igen Lösung von Hydrazoniumchlorid versetzt. Nach 1 Std wird durch Filtertiegel Nr. 4 filtriert, mit Wasser und Alkohol gewaschen und der Niederschlag von Se und Te 3 Std bei 30—40° C und anschließend 2 Std bei 130° C getrocknet. Nach dem Wägen wird er mit warmer konz. Salpetersäure gelöst, dann mit Schwefelsäure bis zum Auftreten weißer Nebel erhitzt und das Tellur mit $K_2Cr_2O_7$-Lösung titriert. Aus der Differenz ergibt sich das Selen. — Zur *Bestimmung des Schwefels* wird das Filtrat von Selen und Tellur mit Ammoniak versetzt, dann mit Salzsäure gegen Methylrot neutralisiert und mit Bariumchloridlösung gefällt. Die Kupferbestimmung im Filtrat erfolgt elektrolytisch, nachdem man das überschüssige Barium als Sulfat entfernt hat. G. Denk

Chrom. F. Capitán-Garcia und M. Lachica-Garrido[1] untersuchen in Hinblick auf die spektrophotometrische Chrom(III)-bestimmung das Absorptionsspektrum der grünen Chrom(III)-sulfatlösung und seine Beeinflussung durch anwesende Lösungspartner sowie durch die Temperatur. Die Chrom(III)-sulfatlösung besitzt 2 scharfe Absorptionsmaxima bei 590 und 420 mμ und dazwischen ein Minimum bei 495 mμ. Schwefelsäure hat in den Konzentrationsgrenzen 2—4 m keinen merklichen Einfluß auf die Extinktion bei 590 mμ, das gleiche gilt für Phosphorsäure im Konzentrationsbereich 5—7 m. Bei höheren Säurekonzentrationen machen sich bathochrome Effekte und Verschiebungen der Lage des Absorptionsmaximums bemerkbar. Wenn beide Säuren gleichzeitig zugegen sind, muß die Vergleichslösung die gleichen Säuregehalte besitzen wie die zu analysierende Probe. In dem Bereich 19—50° C ist die Extinktion unabhängig von der Temperatur. Die Farbe ist mehrere Stunden beständig, das Beersche Gesetz ist im Konzentrationsbereich 0—3000 ppm Cr erfüllt. Ca, Mg, K, Na, Mn^{II} stören die Chrombestimmung nicht, Dichromat-Ionen sind bei 590 mμ bis zur Konzentration 0,5 n $Cr_2O_7^{2-}$ ebenfalls ohne störende Wirkung. Als maximale Abweichungen vom Sollwert bei der Chrombestimmung wurden + 4,3 bzw. — 5,4% festgestellt.
Irmgard Pfitzer

Die papierchromatographische Trennung der verschiedenen Wertigkeitsstufen von Chrom (Cr^{2+}, Cr^{3+}, CrO_4^{2-}) erreicht C. Bighi[2] nach der für Eisen, Quecksilber und Kupfer mitgeteilten Methode[3]. Man benutzt Whatman-Papier Nr. 1 und zur aufsteigenden Entwicklung in inerter (N_2-)Atmosphäre das von F. H. Pollard, J. F. W. McOmie und I. I. M. Elbeih[4] benutzte System Butylalkohol / Essigsäure / Acetessigester / Wasser (50 : 10 : 5 : 35) bei einer Laufzeit von 24 Std (20° ± 2° C). R_f-Werte: Cr^{2+} 0,23, Cr^{3+} 0,75 und CrO_4^{2-} 0,10. Bei absteigender Entwicklung in inerter Atmosphäre mit dem Lösungsmittelgemisch Butanol / Acetessigester / Wasser (50 : 5 : 35) betragen die R_f-Werte: Cr^{2+} 0,12, Cr^{3+} 0,57 und CrO_4^{2-} 0,07. Zum Sichtbarmachen dient Chromotropsäure und Betrachtung in filtrierten UV-Licht. Beim Auftragen der Tüpfel am Startpunkt ist jeder vor dem nächsten völlig zu trocknen. H. Freytag

[1] An. Real Soc. espan. Física Quím., Ser. B, **52**, 237—250 (1956). Estación Experim. del Zaidin, Granada (Spanien).

[2] Ann. Chimica **45**, 1087—1090 (1955). Univ. Ferrara (Italien).

[3] Bighi, C.: Ann. Chimica **45**, 532 (1955); vgl. diese Z. **151**, 283 (1956).

[4] Nature (London) **163**, 292 (1949); vgl. diese Z. **136**, 278 (1952).

Für die Trennung und den Nachweis von Molybdän und Wolfram nebeneinander benützt L. C. F. Blackman[1] die von H. Weisz[2] entwickelte „Ringofenmethode". Durch eine 30%ige wäßrige Chininhydrochloridlösung wird Wolfram auf dem Filtrierpapier fixiert, während Molybdän sich anschließend leicht mit Salzsäure auswaschen und in einer äußeren Zone identifizieren läßt. In den Mittelpunkt eines 5,5 cm Rundfilters (Whatman Nr. 40) gibt man 1 Tropfen der Wolframat und Molybdat enthaltenden Lösung. Der Tropfen wird sorgfältig mit einer 30%igen Chininhydrochloridlösung umringt und darauf der ganze Fleck mit dem Reagens behandelt. Auf einem Ringofen wäscht man das Papier mit 0,1 n Salzsäure aus. Nach dem Trocknen in warmer Luft stanzt man den mittleren Teil des Fleckens (1 cm Durchmesser) heraus. Die Ringzone besprüht man zur Sichtbarmachung des Molybdäns mit einer frisch bereiteten Lösung von 10% Kaliumrhodanid und 5% Zinn(II)-chlorid in 3 n Salzsäure, wobei ein ziegelroter Farbring entsteht. Der ausgestanzte Flecken wird auf die Mitte eines zweiten Filtrierpapiers gelegt und mit 0,1 n Ammoniaklösung ausgewaschen. Entwickelt wird durch Eintauchen in eine 0,1%ige Lösung von Rhodamin B in 6 n Salzsäure und sorgfältiges Auswaschen unter Leitungswasser: ein violetter Ring zeigt Wolfram an. — Das Verfahren läßt sich für einen Tropfen einer Lösung anwenden, der 1,0—5,0 μg Molybdän und 1,0—100 μg Wolfram enthält. In Verbindung mit einer elektrographischen Methode ist hiermit die Möglichkeit eines direkten Nachweises dieser Metalle in Legierungen gegeben.

H. Garschagen

Kobalt. *Die anodische Abscheidung von Kobalt als Oxyd* liefert u. a. wegen der im Verlauf der Elektrolyse immer geringer werdenden Haftfestigkeit des Niederschlags unbefriedigende Werte. Durch *Kombination mit der Isotopen-Verdünnungsmethode* läßt sich einerseits die Elektrolysendauer wesentlich herabsetzen, andererseits verursacht ein etwaiges Abbröckeln von Oxyd keinen Fehler. Nach D. Salyer und T. R. Sweet[3] wird der zu untersuchenden Probelösung ein gemessenes Volumen einer ^{60}Co enthaltenden Lösung (β, γ-Strahler; Halbwertszeit 5,3 Jahre) zugemischt, solange elektrolysiert, bis eine wägbare Menge Oxyd abgeschieden ist, Gewicht und Aktivität des Niederschlags bestimmt und nach $W = A(1/S.A.) - w$ das Gewicht W der Probelösung an Co ermittelt (W-Mengen zwischen 5—15 mg erwiesen sich als günstig). A ist die Gesamtaktivität der zugesetzten aktiven Co-Lösung, w die darin enthaltene Menge Co und $S.A.$ die spezifische Aktivität in Impulsen je min/mg. — *Arbeitsweise.* 10 ml aktive Co-Lösung (0,5 mc/l Lösung) werden mit der inaktiven Probelösung (Standard: 1 g spektrographisch reiner Co-Schwamm in wenig konz. Schwefelsäure gelöst und auf 1 l verdünnt) gut vermischt, 20 ml Pufferlösung (0,10 m Borsäure- + 0,05 m K_2SO_4-Lösung/l) hinzugefügt, mit 0,1 m Natronlauge auf p_H = 7,6 –7,8 eingestellt, mit bidest. Wasser auf 50 ml verdünnt und ein etwaiger Niederschlag abfiltriert. Nun wird die mit einem Sandstrahlgebläse polierte, mit saurer Jodid- oder Oxalatlösung von anhaftenden Oxyden befreite, bei 40° C 15 min getrocknete und gewogene Pt-Anode in die bereits beschriebene Apparatur[4] eingesetzt, die Lösung eingefüllt und 40 min bei 1,5 –1,8 V elektrolysiert. Danach entfernt man die noch aktive Lösung, wäscht die Elektrode sorgfältig mit bidest. Wasser und trocknet zuerst an der Luft, dann 2—2,5 Std im elektrischen Ofen bei 40° C. Ausgewogen wird als $Co_2O_3 \cdot 3\,H_2O$.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1366—1368. Res. Lab. Extension, Admiralty, Harlow, Essex (England).

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 140, 376, 460, 785; **1956**, 667; Chem. Age **71**, 1039 (1955); vgl. diese Z. **145**, 31, 32 (1955); **148**, 146 (1955/56).

[3] Analyt. Chemistry **28**, 61—63 (1956).Univ. Columbus, Ohio (USA).

[4] Theurer, K., und T. R. Sweet: Analyt. Chemistry **25**, 119 (1953); vgl. diese Z. **150**, 120 (1956).

Gemessen wird die γ-Strahlung (die β-Strahlung wird mit Hilfe eines Al-Absorbers entfernt). — Metalle, die bei $p_H = 7{,}8$ als Hydroxyde, Oxydhydrate oder Sulfate ausfallen, stören, sofern eine noch wägbare Menge Co unadsorbiert in Lösung verbleibt, nicht. In Anwesenheit von Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn, Al, Cd, Pb, Erdalkalien und Ag in mit Co vergleichbarer Menge, konnte letzteres mit einer mittleren Abweichung von 1,48% bestimmt werden. In Gegenwart von Mn und Ni, die bis p_H 7,8 keinen Hydroxydniederschlag geben, sich aber mit Co an der Anode abscheiden, muß Co vor Beginn der Elektrolyse nach der Kaliumnitritmethode abgetrennt werden. Die Elektrolyse wird ferner durch As (wahrscheinlich wegen seiner Adsorption an Co-Oxydhydrat) und Hg gestört. Hg kann man durch 15 minutiges Schütteln mit fein verteiltem Cu und As durch Adsorption an $Fe(OH)_3$ entfernen. Verbindungen mit reduzierenden Eigenschaften dürfen nicht anwesend sein (z. B. organische Stoffe, Halogenide, H_2O_2). NELLY KONOPIK

J. MICHAL und J. DOLEŽAL[1] verwenden *zur colorimetrischen Kobaltbestimmung* den gelbbraun gefärbten Komplex von der Zusammensetzung $[Co(en)_3]^{3+}$, der sich in mit Äthylendiamin (en) versetzten Kobaltlösungen bei p_H-Werten über 6 an der Luft bildet. Die Farbe der Lösung ist etwa 2 Std beständig. Im Absorptionsspektrum treten zunächst 2 Maxima bei 320 und 365 mμ auf, von denen aber das erste rasch abnimmt und im UV-Licht verschwindet. Es dürfte einem Peroxokomplex von Kobalt zugehören. Bei 360 mμ ist das BEERsche Gesetz im Bereich 50—300 μg Co in 25 ml erfüllt. Man kann mit kleinerer Empfindlichkeit auch bei 400 oder 425 mμ messen. Die en-Konzentration soll etwa 0,2 m sein, die p_H-Werte können im Bereich 10—14 liegen. Die folgenden Ionen stören auch in 100—200fachem Überschuß nicht: Ag^+, Hg^{2+}, Tl^+, Bi^{3+}, Cd^{2+}, As^{3+}, Sb^{3+}, Sn^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Mg^{2+}, K^+, Na^+, Li^+, NH_4^+, MoO_4^{2-}, UO_2^{2+}. In Gegenwart von Al^{3+}, Zn^{2+}, Pb^{2+}, Sb^{3+} fügt man überschüssige Alkalilauge zu, um Hydroxydfällung zu vermeiden. Von gefärbten Ionen stören nicht Ni bis zu 20fachem Überschuß, Cu bis zur äquivalenten Menge. Eisen fällt als Hydroxyd. Die durch Adsorption von Co an das Hydroxyd bewirkten Fehler können nach der Methode der Standardzusätze eliminiert werden. Cr wird mit Zinkoxyd abgeschieden. A. KURTENACKER

G. MIDDLETON und R. E. STUCKEY[2] verbessern *zur colorimetrischen Bestimmung von Kobaltspuren mit 1-Nitroso-2-naphthol* die Methode von R. PAULAIS[3], deren Vorzug hauptsächlich in der Abtrennung (Zurückhaltung) störender Begleitmetalle durch Chromatographie auf Aluminiumoxyd besteht, indem sie das Reagens über das schwerlösliche Na-Salz wirksamer von farbigen Verunreinigungen befreien und dreiwertiges Eisen in alkalischer Lösung mit Hydroxylamin zum zweiwertigen reduzieren. *Ausführung. Reagensbereitung.* Man löst 10 g käufliches 1-Nitroso-2-naphthol in 300 ml 95%igem Alkohol, gibt 25 ml 20%ige wäßrige Natronlauge dazu, läßt mehrere Stunden kühl stehen, saugt das ausgeschiedene grüne Na-Salz unter Nachwaschen mit etwas Alkohol ab, verteilt es in 250 ml frischem Alkohol, fügt 7 ml Eisessig hinzu, erwärmt bis zur Auflösung, kocht mit 4 g Entfärbungskohle auf, filtriert, versetzt noch einmal mit 25 ml 20%iger Natronlauge und scheidet wie vorher das Na-Salz ab und trocknet es bei 50° C. 0,5 g davon löst man unter gelindem Erwärmen in 5 ml Eisessig, kühlt und verdünnt mit Wasser auf 50 ml, worauf sich das Nitrosonaphthol fein verteilt wieder ausscheidet. Diese Suspension stellt das gebrauchsfertige Reagens dar. *Chromatographiersäule.* Man

[1] Chem. Listy **50**, 911—915 (1956) [Tschechisch]. Inst. Erzforsch. u. Univ. Prag.

[2] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **1**, 135—142 (1956). Brit. Drug Houses Ltd., London. N. 1 (England).

[3] Ann. pharmac. franç. **4**, 101 (1946).

füllt in ein 8—10 mm weites und 50 mm langes, unten zu einer Capillare ausgezogenes Glasrohr 1 g Aluminiumoxyd und darüber, getrennt durch einen Wattebausch, 5 mm hoch wasserfreies Natriumsulfat. Falls eine Probe Co-Nitrosonaphthol, in einigen Millilitern Chloroform gelöst, nicht ungehindert hindurchläuft, läßt man das Aluminiumoxyd über Nacht in dünner Schicht an der Luft liegen, wonach es die Co-Verbindung nicht mehr adsorbiert. *Co-Bestimmung.* Zu 20—50 ml Lösung, welche bis zu 10 μg Co enthalten darf, gibt man 0,5 g Natriumcitrat und 1 Tr. Phenolphthaleinlösung, neutralisiert mit Natronlauge, versetzt mit 1 ml Eisessig und 5 ml Reagens, kocht 1 min, kühlt, extrahiert nacheinander mit 4,3, 3 und 2 ml Chloroform, schüttelt jeden Extrakt mit 10 ml einer 5% Kaliumhydroxyd und 0,5% Hydroxylaminhydrochlorid enthaltenden Lösung und läßt die Chloroformschichten durch die Aluminiumoxydsäule laufen. Von den vereinigten und auf 10 ml verdünnten Abläufen mißt man die Absorption bei 415 mμ. Zur Auswertung benutzt man eine mit bekannten Co-Mengen unter denselben Bedingungen hergestellte Eichkurve. — Enthalten durch Aufschließen von biologischem Material gewonnene Analysenlösungen viel Calcium, Eisen und Phosphat, wodurch in schwach essigsaurer Lösung störende Fällungen entstehen können, dann vermeidet man diese durch Hinzufügen von Natriumhexametaphosphat, dampft die Chloroformlösung nach der chromatographischen Reinigung ein, zerstört die organische Co-Verbindung durch Abrauchen mit Schwefelsäure und Salpetersäure und wiederholt den Analysengang bis zur Absorptionsmessung. F. Neumann

Eine papierchromatographische Mikrobestimmung des Kobalts durch direkte Spektrophotometrie der Flecken wurde von A. Lacourt und P. Heyndryckx[1] ausgearbeitet[2]. Das mit einer 0,1‰igen Lösung von α-Nitroso-β-naphthol in Aceton beiderseits bedampfte Papier (Whatman Nr. 4) wird unter der Ultrarotlampe 15 min bei 40° C getrocknet. Zur Messung bei 850 mμ wird das Papier mit bidestilliertem Wasser befeuchtet. Seine Lichtdurchlässigkeit wird = 100% gesetzt. Zur Bestimmung des Kobalts bringt man die Probe auf einen neuen Streifen Papier, trocknet 15 min bei 40° C unter der Ultrarotlampe, bedampft beiderseitig mit der 1‰ acetonischen Reagenslösung, trocknet und mißt nach Befeuchten mit bidestilliertem Wasser bei 850 mμ. Das Verfahren eignet sich für Flecken von 0,1—3 μg Co. Die Reproduzierbarkeit wird mit 1% oder besser angegeben. G. Denk

III. Analyse organischer Stoffe

1. Elementaranalyse

Zur Bestimmung des Deuteriumgehaltes organischer Verbindungen haben N. R. Trenner, B. H. Arison und R. W. Walker[3] das früher mitgeteilte Verfahren[4] verbessert. Bei der klassischen Verbrennung im Sauerstoff- bzw. Luftstrom verhindert die relativ große Menge des adsorptiv in der Apparatur gebundenen Wassers bei der darauf folgenden Bestimmung durch D_2O-Konzentrationsänderungen die Verwendung kleiner Substanzmengen. Halbmikromengen lassen sich bestimmen, wenn es gelingt, diesen als „Memory-Effekt" bezeichneten Fehler klein zu halten.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1389—1414. Univ. Libre, Brüssel (Belgien).

[2] Vgl. auch A. Lacourt und P. Heyndryckx: Chem. Age **1956**, June 2; vgl. diese Z. **154**, 354 (1957).

[3] Analyt. Chemistry **28**, 530—531 (1956). Merck & Co., Inc., Rahway, N. J. (USA).

[4] Perkin-Elmer Instruments News **4**, Nr. 1 (1952); N. R. Trenner, B. H. Arison, R. W. Walker: Appl. Spectroscopy **7**, Nr. 4 (1953).

Die Verff. erreichen dies durch Verbrennen der organischen Substanz im Bombenrohr und Vorbehandeln der Apparatur (Abb. im Original) mit Wasser, welches im D_2O-Gehalt innerhalb $\pm$ 0,3 Atom-% dem aus der Probe gebildeten Wasser entspricht. Da die adsorptive Wasseraufnahme der beschriebenen Apparatur ungefähr 0,5 mg H_2O beträgt, liegt dadurch der durch „Memory-Effekte" bedingte Fehler innerhalb der analytischen Genauigkeit. Das bei der Verbrennung gebildete Wasser wird vakuumdestilliert und die Ultrarotabsorption bei 3,98 μ bestimmt. Aus einer Eichkurve (aufgenommen von 0—2,2 Atom-% Deuterium in Wasser) wird der Deuteriumgehalt entnommen. Deuteriumgehalte in der Größe von 1% lassen sich mit einem Fehler von $\pm$ 1% bestimmen. K. Gassner

Über eine neue Methode des qualitativen Kohlenstoffnachweises mittels einer Farbreaktion berichtet B. M. Gladštejn[1]. Einige Milligramme der zu untersuchenden Substanz vermischt man mit einer gleichen Menge Ammoniumchlorid und bringt sie mit einem erbsengroßen Stück metall. Kalium oder Natrium zur Schmelze. Im gebildeten KCN oder NaCN wird die Kohlenstoffbestimmung analog Lassaignes' Stickstoffnachweis durchgeführt: Man löst die Schmelze in 10—20 ml Wasser (Brille! Abzug!) filtriert, gibt 2 Tropfen verdünnte Mohr'sche Salzlösung und $FeCl_3$-Lösung dazu und erwärmt. Nach dem Erkalten säuert man mit Salzsäure an. In Gegenwart von Kohlenstoff bildet sich eine Blau- oder Grünfärbung. Die Reaktion ist sowohl für organische als auch für anorganische Kohlenstoffverbindungen verwendbar. Martha Wildau

Die Stickstoffbestimmung in organischen Substanzen nach W. Kirsten[2] haben R. Belcher und A. M. G. Macdonald[3] für die Stickstoffbestimmung in *fluorhaltigen* organischen Verbindungen modifiziert. Gegenüber der von Kirsten[2] beschriebenen Apparatur haben die Verff. folgende Änderungen vorgenommen. Das Verbrennungsrohr ist 650 mm lang und hat einen Durchmesser von 9—10 mm; die Seitenarmlänge beträgt 170 mm. Die Capillaren werden so justiert, daß sich ein Kohlensäurestrom von 9—10 ml/min für Vorwärtsfluß und von 15—20 ml/min für Rückwärtsfluß einstellt. Das Verbrennungsschiffchen hat die Abmessungen 8 × 1,5 cm und besteht aus Nickeldrahtnetz (40 mesh). Die permanente Füllung des Rohres bleibt gleich, sie besteht aus Nickeloxyd, Asbest und Hopcalit; die jeweils auszuwechselnde Füllung besteht aus 1 Teil auf 10—40 mesh gepulvertem Quarz und 2 Teilen Nickeloxyd. Die Verbrennungszeit soll 25—35 min betragen. Die Verff. haben eine Genauigkeit von 0,048% erreicht, die der der Kirsten-Methode für fluorfreie Substanzen entspricht. K. Brodersen

Eine Methode zur raschen Bestimmung von Schwefel in organischen Verbindungen läßt sich nach S. Ohashi[4] durch Reduktion mit Sn^{II} in konz. Phosphorsäure erreichen[5]. — *Ausführung.* 10—30 mg der Analysensubstanz werden mit 7 ml der Reagenslösung (s. u.) versetzt. Im CO_2-Strom wird 20 min auf 250—300 ° erhitzt und der entweichende Schwefelwasserstoff in zwei Vorlagen, die mit je 20 ml Zinkacetatlösung [40 g $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2\,H_2O$ + 30 ml Eisessig in 1000 ml] beschickt sind, absorbiert. Das gebildete Zinksulfid wird mit 20 ml 0,02 n Jodlösung umgesetzt und das unverbrauchte Jod mit 0,02 n Thiosulfatlösung zurücktitriert. —

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 114 (1956) [Russisch].

[2] Mikrochemie **39**, 245 (1952); **40**, 121 (1953); vgl. diese Z. **138**, 280 (1953); **142**, 71 (1954).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1111—1115. Univ. Birmingham (England).

[4] Bull. chem. Soc. Japan **28**, 645—649 (1955). Univ. Kanazawa (Japan).

[5] Das Reduktionsmittel wurde von T. Kiba und Mitarb. [Bull. chem. Soc. Japan **28**, 641 (1955), vgl. diese Z. **154**, 152 (1957)] zur Sulfatbestimmung empfohlen.

In einigen Substanzen, wie Thioharnstoff, Methionin, Acetylmethionin und Thionalid muß der Schwefel erst zu Sulfat oxydiert werden. Dazu wird die Einwaage mit 4 ml einer Lösung von 15 g Kaliumchromat (p. a.) in 200 g konz. Phosphorsäure 10 min auf dem Wasserbad und anschließend einige Minuten gelinde auf einer elektrischen Heizplatte erhitzt, wobei das gesamte überschüssige Chromat in Cr^{III} übergeht. Die Lösung kann nun, wie oben beschrieben, mit Sn^{II} reduziert werden. — *Zur Darstellung der Reagenslösung* wird 89%ige Phosphorsäure bei 300°C dehydratisiert bis ihre Dichte etwa 1,93 beträgt. In 200 g dieser Säure werden 20 g $SnCl_2 \cdot 2\,H_2O$ bei 300°C im CO_2-Strom gelöst. Die Lösung wird in einer mit einem Chlorcalciumröhrchen verschlossenen Bürette aufbewahrt.

G. Denk

Für die Halbmikrobestimmung von Schwefel in heterocyclischen organischen Verbindungen empfehlen D. Cagniant und P. Cagniant[1] folgendes *Verfahren*. Man mischt in einer Mikro-Verbrennungsbombe 25 mg analysenreine Glucose, 200 mg KNO_3, 15 bis höchstens 30 mg der Analysensubstanz und 1,5 g Natriumperoxyd und führt die Verbrennung nach bekanntem Verfahren durch. Die abgekühlte und geöffnete Bombe bringt man in eine tiefe Porzellanschale mit 25 ml dest. Wasser, bedeckt die Schale mit einem Uhrglas und löst den Inhalt der Bombe. Nun bringt man die Lösung in einen 2,8 ml konz. Salzsäure und 2 Tropfen 0,4%ige Bromphenolblaulösung enthaltenden 100 ml-Meßkolben und füllt unter Nachspülen von Bombe und Porzellanschale und Zusatz einiger Tropfen Salzsäure bis zur Marke auf. 25 ml dieser schwach angesäuerten Lösung dampft man in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad zur Trockne ein und bringt auf den abgekühlten Trockenrückstand tropfenweise unter Rühren 20 ml einer nach Friedrich[2] hergestellten Benzidinchloridlösung. Durch Umschwenken bringt man den Salzrückstand in Lösung, wobei nur das Benzidinsulfat ungelöst zurückbleibt, und läßt noch 20 min unter öfterem Umschwenken stehen. Zuletzt saugt man die Lösung durch ein doppeltes, aschefreies Papierfilter und wäscht mit Äthanol, dann mit Wasser, das mit Benzindinsulfat gesättigt ist. Schließlich läßt man 1 ml alkoholische $AgNO_3$-Lösung[2] durch das Filter laufen und wäscht noch 3 mal mit gesättigter Benzidinsulfatlösung, anschließend mit Äthanol. Nun werden in einem 100 ml-Becher 25 ml dest. Wasser nach Zusatz von 2—3 Tropfen Methylrot-Methylenblaulösung (125 mg Methylrot in 50 ml absol. Alkohol + 83 mg Methylenblau in 50 ml absol. Alkohol) zum Sieden erhitzt und nach Zusatz einiger Tropfen 0,02 n Salzsäure mit 0,02 n Natronlauge auf Grün titriert. Man bringt das Filter mit dem Benzidinsulfat in diese Lösung, erhitzt nochmals zum Sieden, titriert mit 0,02 n Natronlauge auf Grün, erhitzt wieder, wobei die Farbe des Indicators in Violett umschlägt, titriert erneut mit 0,02 n Natronlauge und wiederholt diese Manipulation, bis die grüne Farbe stabil bleibt. Als Blindansatz führt man die Verbrennung unter den gleichen Umständen, aber ohne Zusatz der Analysensubstanz durch. Der Fehler beträgt nicht mehr als 0,62%.

K. Söllner

2. Qualitative und quantitative Analyse

Bestimmung organischer Verbindungen in wasserfreiem Medium. In differenzierenden Lösungsmitteln können die Dissoziationskonstanten von manchen Säuren und Basen um mehrere Größenordnungen abweichen, obwohl sie in wäßrigen

[1] Bull. Soc. chim. France **1956**, 765—768. Univ. Straßburg.

[2] Friedrich: La pratique de la Microanalyse organique quantitative. S. 203, Dunod, Paris 1939.

Lösungen beinahe gleich sind. In ausgleichenden Lösungsmitteln werden die Dissoziationskonstanten annähernd gleicher Größenordnung, ausgenommen solche schwachen Basen, welche mit Eisessig kein Acetat bilden. In diesem Fall wird nicht das Acetat-Ion, sondern die protonaufnehmende Base mit Überchlorsäure titriert. Allgemein, aber nicht unbedingt sind die differenzierenden Lösungsmittel mit Wasser mischbar, dürfen weder Säure- noch Basencharakter besitzen und ihre Dielektrizitätskonstante soll möglichst groß sein. Es müssen aber bei den Lösungsmitteln nicht alle diese Eigenschaften bestehen, das Fehlen einer oder der anderen verhindert die Anwendung nicht. Zur Bekräftigung führt I. Gyenes[1] zahlreiche Beispiele an und gibt die Anwendungsmöglichkeiten von verschiedenen Lösungsmitteln und Analyse von Arzneimittelpräparaten durch maßanalytische Bestimmung in wasserfreien Lösungen an. 52 Literaturhinweise beziehen sich auf die angegebenen Methoden und 13 zusammenfassende Arbeiten sind angegeben. J. Plank

Für den Nachweis endständiger nichtcyclischer Doppelbindungen in organischen Molekülen eignet sich nach A. Chatterjee und S. G. Majumdar[2] Perjodsäure als Reagens. Perjodsäure oxydiert ungesättigte Äthylenverbindungen durch Aufspalten der Doppelbindung. Man erhält Carbonylderivate, die sich als ihre 2,4-Dinitrophenylhydrazone oder Dimethone leicht charakterisieren und bestimmen lassen. Der Reaktionsablauf ist noch nicht genau geklärt. Man nimmt an, daß die Oxydation der Doppelbindung durch Perjodsäure zur Bildung von Epoxyden führt, die anschließend zu α-Glykol umgeformt werden[3]. α-Glykol reagiert dann mit der überschüssigen Perjodsäure nach Malaprade[4] unter Bildung von Carbonylderivaten. — *Ausführung der Oxydation von Zimtsäure.* 1 g der Säure wird in 250 ml Wasser gelöst und mit 6,0 g Perjodsäure versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 4 Std bei Raumtemperatur stehen und unterwirft es anschließend einer Wasserdampfdestillation. Neben Benzaldehyd erhält man ziemliche Mengen Jod. Aus dem Destillat wird der Aldehyd mit 100 ml Äther extrahiert. Der Extrakt wird zur Entfernung von Jod mit einer wäßrigen Natriumsulfitlösung und mit Wasser gewaschen und anschließend in einer Atmosphäre von Stickstoff eingedampft. Durch Reaktion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin erhält man orangerote Kristalle, Fp 234° C. *Oxydation von Chinin.* 1 g Chininhydrochlorid wird in 250 ml Wasser gelöst und mit 6,09 g Perjodsäure versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 4 Std bei Raumtemperatur stehen. Dann wird es wie oben beschrieben destilliert und weiterbehandelt. Man erhält Formaldehyd, der als sein 2,4-Dinitrophenylhydrazon (Fp 155° C) bestimmt wird. Der eingeengte Ätherextrakt des Dampfdestillates wird mit einer alkoholischen Lösung von Dimedon (Dimethyldihydroresorcin) behandelt, bis sich farblose Dimedonkristalle (Fp 188—189° C) abscheiden. — Die Oxydation anderer ungesättigter Verbindungen erfolgt in gleicher Weise. Aus den Hydrochloriden von Chinidin, Cinchonin, Cinchonidin und Cuprein erhält man dabei Formaldehyd in einer Ausbeute von 94—95%, aus Glykosinhydrochlorid Benzaldehyd (Ausbeute etwa 98%). K. Machner

Polarographische Bestimmung von Alkylhydroperoxyden. Untersuchungen von D. A. Skoog und A. B. H. Lauw-Zecha[5] über das polarographische Verhalten von

[1] Magyar Kémikusok Lapja (Z. Ver.ung. Chem.) **11**, 143—147 (1956) [Ungarisch]. Kőbányai Gyógyszertárugyár, Budapest.

[2] Analyt. Chemistry **28**, 878—879 (1956). Univ. College of Science and Technology, Calcutta (Indien).

[3] Swern, D.: Chem. Reviews **45**, 26 (1949).

[4] Malaprade, L.: Bull. Soc. chim. France [4] **43**, 683 (1928); C. R. Acad. Sci. **186**, 382 (1928).

[5] Analyt. Chemistry **28**, 825—828 (1956). Univ. Stanford, Calif. (USA).

Alkylhydroperoxyden mit 4—9 C-Atomen in der Kette haben ergeben, daß ihre Halbstufenpotentiale sich nur sehr wenig unterscheiden, so daß ihre Einzelbestimmung bei Gegenwart anderer Hydroperoxyde nicht gelingt. Beste Bedingungen zur Aufnahme der Polarogramme sind: möglichst geringer Gehalt an Äthanol (höchstens 20%) und Verwendung von Schwefelsäure (0,1 F) als Leitsalz. Vor Aufnahme des Polarogramms ($m^{2}/_{3}$ $t^{1}/_{6} = 2{,}644$) muß 10—20 min mit Stickstoff behandelt werden. Das Halbstufenpotential wird mit steigendem Molekulargewicht des Peroxyds positiver. Tertiäre Peroxyde werden etwas schwerer reduziert als primäre und sekundäre. Mit steigendem Molekulargewicht nimmt der Diffusionsstrom erheblich ab, das Polarogramm wird aber ausgeprägter und nähert sich dem für eine 2-Elektronenreaktion. Die Diffusionsströme sind der Konzentration linear proportional, doch sind die Diffusionsstromkonstanten sehr verschieden, so daß die Verwendung der polarographischen Analyse auf eine Bestimmung der funktionellen Gruppe begrenzt bleibt. K. Cruse

Zum Nachweis von Spuren von Äthylalkohol benutzen F. Feigl und C. Stark[1] die Tatsache, daß Acetaldehyd mit einer Lösung, die Nitroprussiat und Morpholin oder Piperidin enthält, eine blaue Färbung ergibt. Der nachzuweisende Äthylalkohol kann durch Permanganat oder Dichromat in schwefelsaurer Lösung oxydiert werden. Ein Überschuß an Oxydationsmittel verringert die Empfindlichkeit, da teilweise Essigsäure gebildet wird. Diese Herabsetzung der Empfindlichkeit kann vermieden oder verringert werden, wenn der Alkohol in Flüssigkeiten nachgewiesen wird, die nicht mit Wasser mischbar sind. In Abwesenheit von Wasser kann der Nachweis mit größerer Empfindlichkeit geführt werden, da dann keine Hydratation des Aldehyds eintritt. Die Oxydation kann auch mit Hilfe von heißem Kupferdraht oder Kupferoxyd durchgeführt werden. — *Ausführung A.* 3 Tropfen einer Schwefelsäure-Permanganatlösung (hergestellt aus gleichen Vol. 0,1 n $KMnO_4$-Lösung und 1 : 1 verdünnter Schwefelsäure) werden in einem Mikroreagensglas mit 1—3 Tropfen der Probelösung überschichtet. Man verschließt die Öffnung mit einem Bausch Filterpapier, der mit 1 Tropfen Reagenslösung (gleiche Vol. 5%ige Natriumnitroprussiatlösung und 20%ige wäßrige Morpholinlösung, unmittelbar vor dem Gebrauch gemischt) befeuchtet wurde. Wenn Äthanol zugegen ist, erscheint ein blauer Fleck auf dem farblosen oder lichtgelben Papier in 2—6 min. 60 μg Äthanol können in 1 Tropfen einer Mischung von Benzol und Alkohol nachgewiesen werden. — *Ausführung B.* 1—3 Tropfen der Probe werden im Mikroreagensglas mit einigen Zentigrammen heißem Kupferdraht oder Kupferoxyd versetzt. Man verschließt das Glas sofort mit einem Bausch Filterpapier, der mit 1 Tropfen Reagenslösung befeuchtet ist. Bei Anwesenheit von Äthanol erscheint sofort ein heller bis dunkler blauer Fleck. Die Methode B geht schneller und ist empfindlicher als A. Man findet noch 3 μg Äthanol in 1 Tropfen Benzol-Äthanol-Mischung. Äther gibt bei der Methode A eine positive Reaktion. Verschiedene Fruchtsäfte wurden ebenfalls nach Methode A untersucht, einige gaben positive Teste, obgleich sie als „frei von Alkohol" bezeichnet waren. Die Reaktion wurde hauptsächlich zum Nachweis von Äthanol in Motorölen entwickelt. Barbara Grüttner

Zur Identifizierung von Thioäthern eignen sich, wie aus Untersuchungen von M. Večeřa und J. Petránek[2] hervorgeht, die S,S-Dialkyl-N-p-toluolsulfonylsulfylimine. Zu ihrer Herstellung löst man 0,005 Mol Chloramin T in 10 ml Methanol und vermischt mit 10 ml einer ebenfalls methanolischen Lösung von 0,005 Mol des

[1] Chemist-Analyst **45**, 39—40 (1956). Minist. da Agricult., Rio de Janeiro (Brasil.).

[2] Chem. Listy **50**, 240—245 (1956) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. org. Synth., Pardubice-Rybitví (ČSR).

Sulfids. Man destilliert das Lösungsmittel ab und wäscht den Rückstand mit 5 ml 2 n Natronlauge und dann mit 20 ml Wasser. Das Reaktionsprodukt löst man in 10 ml Toluol auf dem siedenden Wasserbad, filtriert, versetzt in der Wärme mit Cyclohexan bis zur ersten Trübung und läßt auskristallisieren. Zur Identifizierung bestimmt man auf dem KOFLER-Block die Schmelzpunkte und die eutektischen Temperaturen. Zur Herstellung der eutektischen Mischungen benutzt man für Sulfylimine, die bis zu 95° C schmelzen, Benzil, für solche zwischen 95 und 120° C schmelzend Acetanilid, für die anderen höher schmelzenden Phenacetin und für Dibenzylsulfylimin Dicyandiamid. Die Verbindungen vermischt man im Verhältnis 1 : 1. Die Brechungsindices der Schmelzen ermittelt man mit Hilfe der KOFLERschen Glaspulvermethode. H. FREYTAG

Bestimmung der Carbonylgruppen. *Ein colorimetrisches Verfahren zur Mikrobestimmung* wird von E. E. VONESCH und O. A. GUAGNINI[1] beschrieben. Das Verfahren beruht auf der Oximierung mit einem Überschuß an Hydroxylamin und colorimetrischer Bestimmung des unverbrauchten Restes durch Überführen in die Eisen(III)-verbindung von Formhydroxamsäure[2]. Die Oximierung erfolgt in 90%iger äthanolischer Lösung bei p_H 4,5—5 mit einem 6fachen Überschuß an Hydroxylamin. 200—2500 μg einer Carbonylverbindung lassen sich auf 1% genau analysieren. Zur Kennzeichnung des Bindungsvermögens verwenden Verff. die „Hydroxylaminzahl", die definiert wird als die Anzahl Mikrogramme Hydroxylamin, die von 1 mg Probe gebunden werden. — *Ausführung.* Man versetzt genau 2 ml 0,1 n $NH_2OH \cdot HCl$-Lösung mit der zur Einstellung von p_H 4,5—5 notwendigen Menge alkoholischer KOH-Lösung (es sind dies 15% weniger als zur Neutralisation der Lösung gegen Phenolphthalein als Indicator gebraucht werden). Dann gibt man 2—5 ml der Probe zu, füllt mit aldehydfreiem Äthanol auf 25 ml auf und kocht $^1/_2$ Std am Rückflußkühler. In 0,5 ml der Flüssigkeit erfolgt dann die colorimetrische Bestimmung des Hydroxylaminüberschusses wie früher beschrieben[2]. Die Auswertung erfolgt nach einer Eichkurve. IRMGARD PFITZER

Zur indirekten Bestimmung der Carbonylgruppe empfehlen A. BERKA und J. ZÝKA[3] die Fällung mit überschüssiger 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung und Rücktitration des unverbrauchten Restes mit Chloramin T-lösung in Gegenwart von Kaliumbromid. Die Resultate sind in den mitgeteilten Analysen verschiedener Aldehyde und Ketone auf einige Zehntel Prozente genau. — *Ausführung.* Man löst 2—10 mg des zu untersuchenden Stoffes in wenig Äthanol, versetzt mit 5—10 ml 0,01 m Dinitrophenylhydrazinlösung (in 2 n Salzsäure, 2 Wochen haltbar) und läßt 12 Std stehen. Dann filtriert man durch Blaubandfilter, wäscht mit etwa 20 ml 2 n Salzsäure, verdünnt das Filtrat mit Wasser auf ungefähr das doppelte Volumen, versetzt mit 1—2 g KBr und titriert mit 0,01 m Chloramin T-lösung potentiometrisch (Platin-Kalomelelektroden). Der Potentialsprung beträgt etwa 250 mV auf 0,05 ml Maßlösung. — Das Titrationsverfahren mit Chloramin T-lösung eignet sich auch zur *Bestimmung von Semicarbazid oder Nitrophenylhydrazin.* Andere Oxydationsmittel, z. B. Cer(IV)-lösung, $K_3Fe(CN)_6$ in alkalischer Lösung, Nitrit oder Perjodat erwiesen sich als unbrauchbar. A. KURTENACKER

---

[1] An. Asoc. quím. argent. **43**, 185—189 (1955). Univ. Nacional de La Plata (Argentinien).

[2] GUAGNINI, O. A., u. E. E. VONESCH: An. Asoc. quím. argent. **41**, 78 (1953); E. E. VONESCH u. O. A. GUAGNINI: An. Asoc. quím. argent. **43**, 62 (1955); vgl. diese Z. **145**, 217, 218 (1955).

[3] Chem. Listy **50**, 831—833 (1956) [Tschechisch]. Univ. Prag (ČSR).

Polarographische Bestimmung von Mesityloxyd. Mesityloxyd liefert nach S. CABANI und L. LARDICCI[1] in 10^{-4}—10^{-3} m Lösung eine zur quantitativen Bestimmung geeignete polarographische Stufe bei — 1,3 V, wenn in MCILVAINE-Pufferlösung (0,1 m) vom p_H-Wert 4,8 mit Gelatine- (0,005%) oder Methylrotzusatz polarographiert wird (t = 4,8 sec, m = 1,366 mg/sec, $m^{2/3}\,t^{1/6} = 1{,}59$ bei 52 cm Hg-Säule) und wenn die Lösung zuvor mit Stickstoff behandelt und sofort nach Zubereitung oder besser noch im dunklen Glas vor Licht geschützt untersucht wird. Die Versuchsbedingungen sind aus eingehenden Untersuchungen über die p_H-, Temperatur- und Konzentrationsabhängigkeit des Halbstufenpotentials für den p_H-Bereich 2,3—10 und für $2 \cdot 10^{-4}$—$8 \cdot 10^{-3}$ m Lösungen abgeleitet. Die Stufenhöhe ist der Konzentration im Bereich $6 \cdot 10^{-4}$—10^{-2} m Lösungen linear proportional. Der Analysenfehler liegt bei ± 2%. Wird bis zu 50% Äthanol zugesetzt, dann sinkt zwar der Diffusionsstrom, die Stufenhöhe bleibt aber der Konzentration im angegebenen Bereich linear proportional. K. CRUSE

Gemische von gesättigten Fettsäuren (C_{12}—C_{24}) lassen sich nach F. A. VANDENHEUVEL und D. R. VATCHER[2] durch Verteilungschromatographie quantitativ auftrennen, wenn man silanbehandeltes Silicagel als Träger, Isooctan als stationäre Phase und Methanol-Wasser als Elutionsmittel verwendet[3]. Hierzu konstruierten die Verff. eine halbautomatische Apparatur, mit der man vom konstant ablaufenden Eluat kontinuierliche Konzentrationsbestimmungen durchführen kann. Aus dem resultierenden Diagramm lassen sich auf Grund der Maxima die einzelnen Säurefraktionen und deren Menge berechnen. Anwesende ungesättigte Säuren müssen vorher durch Oxydation entfernt werden; sie können auch nach Hydrierung zusammen mit den gesättigten Fettsäuren bestimmt werden. — *Apparative Anordnung.* An das mit Silicagel gefüllte Trennrohr sind Vorratsbehälter mit verschiedenen Lösungsmitteln angeschlossen. Eine Mischvorrichtung ermöglicht, die Lösungsmittel vor Eintritt in das Trennrohr in beliebigem Verhältnis zu mischen. Unter dem Trennrohr ist ein Auffanggefäß angebracht, in das eine Glaselektrode (angeschlossen an ein p_H-Meßgerät) sowie die Spitze einer halbautomatischen Kolbenbürette eintauchen. — *Herstellung der Trennrohrfüllung.* Man siebt Kieselsäure (Malinckrodt Nr. 2847) aus (Fraktion zwischen Sieb Nr. 170 und 230), trocknet 75 g davon im Vakuum zur Gewichtskonstanz und setzt 4,5 g Wasser zu. Dann übergießt man das angefeuchtete Gel mit einer Lösung von 27 ml Dichlordimethylsilan + etwa 300 ml Isooctan. Nach Absaugen der silanhaltigen Lösung wird das Gel mehrmals mit Isooctan und schließlich mit Methanol gewaschen. — *Durchführung der Trennung.* Aus dem Vorratsbehälter wird zunächst 75%iges Methanol zufließen gelassen und die Anzeige des p_H-Meßgerätes als Nullwert festgehalten. Sodann tropft man auf die Trennkolonne 0,75 ml Probelösung auf, beschickt die Vorlage mit 10 Tropfen carbonatfreier Lauge und setzt eine Uhr in Gang. Das abtropfende saure Eluat neutralisiert nun allmählich die vorgelegte Lauge. Wenn der Zeiger des p_H-Meßgerätes die ursprüngliche Marke erreicht hat, wird die Zeit notiert und der Vorgang sooft wiederholt, bis keine Lauge mehr verbraucht wird. G. KAINZ

Eine Farbprobe auf Anwesenheit von Glyceriden der Linolensäure in Ölen und Farbreaktion einiger organischer Verbindungen mit Pikrinsäure schlagen T. A.

[1] Gazz. chim. ital. **86**, 325—341 (1956). Univ. Pisa (Italien).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 838—845 (1956). Fisheries Res. Board of Canada, Halifax, Nova Scotia (Canada).

[3] Über die verteilungschromatographische Trennung der Fettsäuren (C_2 bis C_{12}) vgl. F. A. VANDENHEUVEL und E. R. HAYES, Analyt. Chemistry **24**, 960 (1952); vgl. diese Z. **139**, 120 (1953).

Pcheidze und V. P. Goguadze[1] vor. Die Methode ist anwendbar bei Verbindungen, die keine aromatischen Kohlenwasserstoffe, Amine, Phenole u. a. enthalten, welche mit Pikrinsäure eine Farbreaktion geben. Die Versuche zeigen, daß eine rote Färbung unter Erwärmung mit Geraniol, Tetrabutindiol, Limonen, Ionon, Methylionon und Ergosterin erzielt wird. Carotinoide dagegen geben eine intensiv grüne Färbung. — *Ausführung.* Man versetzt 15 Tropfen der zu untersuchenden Lösung (bei festen Proben 0,2 g) in einem Probierröhrchen mit 2 ml Eisessig, der mit Pikrinsäure bei Zimmertemperatur gesättigt ist, schüttelt und kocht 3—5 min. Eine Rotfärbung geben Soja-, Lein- und Senföl wie auch Lebertran (Öle, die Glyceride der Linolensäure enthalten). Die Empfindlichkeit der Methode beträgt 0,1 g/2 ml. Bei Carotinoiden ist die untere Empfindlichkeitsgrenze bei $1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml, die obere bei 0,1 mg/ml. Martha Wildau

Ein papierchromatographisches Verfahren zur Trennung von 1-Mono-, 1,3-Di- und Triglyceriden, Cholesterin und Cholesterylestern beschreiben J. W. Dieckert und R. Reiser[2] als Erweiterung ihrer vorhergehenden Arbeit[3]. Untersucht werden *Cholesterylacetat, Cholesterylpalmitat, Cholesterin, Tripalmitin, ungesättigte Triglyceride (Wesson Oil), 1,3-Dipalmitin, 1,3-Diolein, 1-Monopalmitin und 1-Monoolein,* von denen je eine Stammlösung von 1 mg in 1 ml Chloroform hergestellt wird. Zur Vorbereitung des benötigten, mit Kieselsäure behandelten *Glasfaserpapiers* werden 100 g chem. reine Kieselsäure mit 200 ml Wasser gemischt und mit 100 ml gesättigter Kaliumhydroxydlösung versetzt. Nach dem Auflösen der Kieselsäure wird die Silicatlösung durch ein Glassinterfilter filtriert und mit 600 ml Wasser verdünnt (eine Woche haltbar). Glasfaserfiltrierpapierbogen (Nr. X-934-AH der H. Reeve Angel & Company, New York City 7) werden in die Silicatlösung getaucht und durch vorsichtiges Schlagen mit einem Glasstab vom Überschuß befreit. Anschließend wird das Papier ebenso je 5 min lang in 4 n Salzsäure und in destilliertem Wasser behandelt. Die Wasserwaschung wird 3mal wiederholt, das überschüssige Wasser ablaufen gelassen und das Papier in Methanol 5 min lang eingeweicht. Die Methanolwäsche wird 1mal wiederholt. Darauf wird das Papier 2mal 5 min lang in Äthyläther eingeweicht und dann hängend getrocknet. Auf das so vorbereitete Papier werden je Startpunkt 10—20 μg jeder zu untersuchenden Substanz aufgetragen. Als Lösungsmittelsysteme werden 1-, 2- und 5%ige (alle Angaben in Volumen-%) Lösungen von Äthyläther in Isooctan verwendet. Zur Sichtbarmachung der Flecke wird verdünnte Schwefelsäure (1 : 1) aufgesprüht und das Papier sanft über einem elektrischen Erhitzer erwärmt. Cholesterinhaltige Lipoide erscheinen als rosafarbene Flecke, die markiert werden. Darauf wird stärker erhitzt, um die verkohlten schwarzen Flecke der Glyceride und Sterine markieren zu können. Die Anordnung der Verbindungen nach steigenden R_f-Werten ist in allen Systemen wie folgt: 1-Monoglyceride, 1,3-Diglyceride, Cholesterin, Triglyceride und Cholesterylester. Ungesättigte Fettsäuren in den Glyceriden sowie deren Kettenlänge im Cholesterylester haben keinen Einfluß auf die R_f-Werte. Mit der Erhöhung des Ätherantheiles im Lösungsmittelsystem steigen die R_f-Werte. K. Wagner

Über die Trennung und den Nachweis von Cyanamid und dessen Derivaten sowie über die Bestimmung von Harnstoff auf Papierchromatogrammen (P.C.) stellten J. E. Milks und R. H. Janes[4] Versuche an. Als Versuchsmaterial dienten Mutter-

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 91—93 (1956) [Russ.]. Chem. Pharm. Wiss. Unters.-Inst., Tbilsk.

[2] J. Amer. Oil Chemists' Soc. **33**, 123—126 (1956). Dptm. Biochem., Nutrition, College Station, Tex. (USA).

[3] Science (Washington) **120**, 678 (1954).

[4] Analyt. Chemistry **28**, 846—849 (1956). North American Cyanamid, Ltd., Welland Plant, Niagara Falls, Ontario (Canada).

laugen, die bei der Herstellung von Dicyandiamid anfallen. Je 50 μl Probe wurden auf Whatman Nr. 3 mit Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:1) in Parallelversuchen absteigend chromatographiert. Nach 23 Std Entwicklung wurden die einzelnen P.C. mit einer der folgenden Reagenslösungen besprüht: alkal. Cyanoferrat(III)-Nitroprussidnatriumgemisch, ammoniakal. Silbernitratlösung, salzsaure p-Dimethylaminobenzaldehydlösung, alkoholische 1,2-Dichlorchinonchlorimidlösung, alkalische 1,2-Naphthochinon-4-sulfonatlösung. Auf Grund der R_f-Werte und der Farbreaktionen wurde auf folgende Verbindungen geschlossen: N-Cyanharnstoff, Harnstoff, Melamin, Guanylthioharnstoff, Thioharnstoff, Guanylguanidin, Ammoniumrhodanid, Dicyandiamid sowie Cyanamid. — Des weiteren wird eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Harnstoffs nach papierchromatographischer Trennung beschrieben (vgl. auch Hübener u. Mitarb.[1]): Nach Besprühen des Leitchromatogramms mit alkal. Cyanoferrat(III)-Nitroprussidlösung (Harnstoff: rote Farbreaktion) schneidet man aus einem Parallelchromatogramm die analoge Fläche aus und eluiert sie mit Wasser. Nach Zusatz von 10 ml Dimethylaminobenzaldehydlösung (2 g in 100 ml 1,2 n Salzsäure) wird die Absorption der gelben Lösung bei 420 mμ gemessen. G. Kainz

Über einen papierchromatographischen Nachweis von Citronensäure, Aconitsäure und Weinsäure berichten K. Schreier und W. Hack[2], die in der üblichen absteigenden Papierchromatographie als Lösungsmittel Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 1) benutzen. Die luftgetrockneten Streifen werden mit einer 4%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Essigsäureanhydrid, der einige Kristalle wasserfreies Natriumacetat zugesetzt werden, besprüht und 1—2 min lang bei etwa 140° C getrocknet. Citronensäure (R_f 0,29) liefert einen tief purpurroten, Aconitsäure (R_f 0,80) einen weinroten und Weinsäure (R_f 0,26) einen rotorange Farbfleck. Die Nachweisgrenze liegt bei etwa 1 μg. K. Wagner

Ein Schnellverfahren zur papierchromatographischen Trennung von Kohlenhydraten und verwandten Stoffen innerhalb von 2 Std beschreiben H. T. Gordon, W. Thornburg und L. N. Werum[3]. Man chromatographiert in einer früher[4] beschriebenen, von Verff. modifizierten Apparatur unter Anwendung von 290 mm langen Doppelstreifen, die mit einer Mischung von dest. Wasser, reinstem Pyridin und Eisessig im Verhältnis 80:15:5 gewaschen werden. Das aus biologischem Material extrahierte Substanzgemisch löst man zur Auftragung auf den Papierstreifen in 10% Pyridin enthaltendem Wasser. Die Entwicklung erfolgt mit einem Gemisch Isopropanol-Pyridin-Eisessig-Wasser (8:8:1:4). Das Original enthält ausführliche experimentelle Anweisungen, die Vorschriften für 7 verschiedene Reagentien zur Sichtbarmachung der Stoffe und umfangreiche Tabellen mit den R_f-Werten der wichtigsten Kohlenhydrate. K. Söllner

Eine chromatographische Methode zur Trennung von sauren Mucopolysacchariden beschreiben G. S. Berenson, S. Roseman und A. Dorfman[5] am

---

[1] Hübener, H. J., F. Bode, H. J. Mollat und M. Wehner: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **290**, 136 (1952); vgl. diese Z. **140**, 205 (1953).

[2] Naturwissenschaften **43**, 178—179 (1956). Univ.-Kinderklinik, Heidelberg.

[3] Analyt. Chemistry **28**, 849—855 (1956). Univ. Berkeley 4, Calif., u. California Packing Corp., Emeryville, Calif. (USA).

[4] Gordon, H. T. and C. A. Hewel: Analyst. Chemistry **27**, 1471 (1955); vgl. diese Z. **151**, 289 (1956).

[5] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **60**, 75—80 (1955). Univ. Chicago und La Rabida Jackson Park Sanatorium, Chicago (USA).

Beispiel der Hyaluronsäure und Chondroitinschwefelsäure. Die entsprechenden Mucopolysaccharide werden durch Behandlung mit Amberlite IR-120 in die H^+-Form übergeführt. Zur Absorption dient als stationäre Phase siliconierter Celit, der mit einer Lösung von 3% Laurylamin in mit Wasser gesättigtem Butanol getränkt ist. Als Elutionsmittel dienen NaCl-Lösungen verschiedener Konzentrationen. Hyaluronsäure wird hauptsächlich durch NaCl-Lösungen $\leqq$ 0,06 n eluiert, während Chondroitinschwefelsäure vorwiegend von stärkeren NaCl-Lösungen ($\geqq$ 0,15 n) eluiert wird. Der Nachweis geschah für Chondroitinschwefelsäure durch Sulfatbestimmung und für Hyaluronsäure durch Verwendung zugesetzter radioaktiver Hyaluronsäure, die ^{14}C enthielt. Außerdem wurden Viscositätsmessungen durchgeführt. Es zeigte sich, daß die Viscositäten der von 0,02—0,06 n NaCl-Lösungen eluierten Anteile an Hyaluronsäure zwischen 0,89 und 3,11 gegenüber einem ursprünglichem Wert von 2,41 schwankten. Bei Chondroitinschwefelsäure schwankten die Viscositätswerte dagegen bei den von 0,2—1,0 n NaCl-Lösungen eluierten Substanzen nur zwischen 0,34 und 0,56 gegenüber einem Normalwert von 0,41. Man kann annehmen, daß besonders bei Hyaluronsäure trotz mangelnder chemischer Nachweise eine Trennung in Fraktionen verschiedener Molekulargewichte stattgefunden hat. — *Verfahren.* Celit wird mit heißer konzentrierter Salzsäure gereinigt, mit dest. Wasser gewaschen, bei 100° C getrocknet und 2 Std bei Gegenwart von Silandämpfen auf 160° C erhitzt. Dann vermischt man es mit der Hälfte seines Gewichtes einer Lösung von 3% Laurylamin in Butanol, das fast mit Wasser gesättigt ist, füllt damit eine chromatographische Säule von 12 cm Länge und 3,75 cm Durchmesser und wäscht mit Wasser. Die sauren Polysaccharide löst man in Wasser, das mit Butanol gesättigt ist, gibt sie auf dieSäule und wäscht so lange mit Wasser, bis das Eluat klar ist. Die dabei verlorengehenden Polysaccharide müssen zurückgewonnen werden. Auf der Säule können 200—250 mg Chondroitinschwefelsäure oder 100—150 mg Hyaluronsäure absorbiert werden. Die Elution erfolgte durch je 500 ml NaCl-Lösung der Konzentration 0,02 n, 0,04 n, 0,06 n, 0,08 n, 0,10 n, 0,15 n, 0,20 n, 0,40 n, 0,60 n, 0,80 n, 1,0 n und 2,0 n und 1%ige Natronlauge.

Hildegard Pluskal

Die Farbreaktion von 1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol (I) mit Pyridin hat V. Šedivec[1] einer eingehenden Prüfung unterzogen, um die besten Bedingungen für die Anwendung der Reaktion zur photometrischen Bestimmung von I zu ermitteln. Beim Erwärmen von I mit Pyridin entsteht eine Gelb- bis Orangefärbung, die auf Zusatz von Alkalilauge in Rotviolett mit dem Absorptionsmaximum bei 550 mμ übergeht. Größere Laugekonzentration verursacht die störende Auftrennung der Lösung in 2 Phasen, was nach Untersuchungen anderer Autoren durch Zugabe von Äthanol verhindert werden kann. Verf. zieht Verdünnen mit Wasser vor, weil die Farbe dadurch beständiger wird und auch große Überschüsse an Dinitrobenzol und Dinitrotoluol nicht störend wirken. Allerdings muß mit einer größeren Pyridinmenge als sonst gearbeitet werden und in Kauf genommen werden, daß die Farbintensität etwas geringer als in alkoholischer Lösung ist. Die Bestimmungsfehler sind meist nicht größer als 5%. — *Aufstellung der Eichkurve.* Man füllt in eine Reihe von Proberöhren steigende Mengen einer frisch bereiteten 0,1%igen Lösung von I in Pyridin (0—200 μg l) und füllt mit Pyridin auf 10 ml auf. Dann erhitzt man 25 min auf 90—100° C, kühlt, überträgt in 25 ml-Meßkolben, spült mit Wasser nach, setzt 2 ml 4%ige Natronlauge zu und ergänzt mit Wasser zur Marke. Man mißt innerhalb 30 min mit Grünfilter in 0,5 cm-Küvetten. Die Eichkurve ist eine Gerade.

A. Kurtenacker

[1] Chem. Listy **50**, 748—751 (1956) [Tschechisch]. Collect. czechoslov. chem. Commun **21**, 820—824 (1956). Inst. f. Arbeitshygiene u. Berufskrankh., Prag (ČSR).

Zur Bestimmung kleiner Mengen Chlorbenzol in Benzol empfiehlt V. Šedivec[1] in Anlehnung an andere Autoren die Probe zu nitrieren und das entstandene 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol(I) mit Hilfe der Pyridinreaktion[2] photometrisch zu bestimmen. Die Bestimmung wird durch das aus Benzol gebildete m-Dinitrobenzol nicht gestört[2]. Die überschüssige Nitriersäure wird nicht mit Alkalilauge sondern mit Pyridin neutralisiert, weil dadurch störende Hydrolyse von I vermieden wird. — *Ausführung.* Man fügt 0,05—2 g der zu untersuchenden Probe zu 5 ml Eisessig und füllt mit Eisessig auf 10 ml auf. 0,2 ml diese Lösung pipettiert man in 2 ml Nitriersäure (1 T. rauchende Salpetersäure + 2 T. konz. Schwefelsäure) mischt, verdünnt nach 15 min mit 15 ml Wasser, gibt 10 ml Pyridin zu und erhitzt 25 min im Wasserbad auf 90—95° C. Nach dem Abkühlen versetzt man im Scheidetrichter mit 10 ml 40%iger Natronlauge, schüttelt und läßt die abgeschiedene, violett bis blau gefärbte Pyridinphase in einen 25 ml-Meßkolben ab. Hier wird mit 1 ml 4%iger Natronlauge versetzt und mit Wasser zur Marke aufgefüllt. Die Farbmessung erfolgt unter Verwendung von Grünfilter[2]. Zur Aufstellung der Eichkurve (Gerade) dienen Chlorbenzollösungen in Eisessig mit 20—160 μg Gehalt je 0,2 ml. — Die Bestimmungsfehler sind auch in Gegenwart großer Mengen Benzol im allgemeinen nicht größer als 5%. A. Kurtenacker

Zur UR-Analyse von Isomerengemischen von Naphthalinmonosulfonsäure und von β-Naphtholmonosulfonsäure können die festen Analysenproben nach S. Tanaka[3] mit Hilfe von zugesetztem Aluminiumstearat homogen in Chloroform dispergiert werden. Mit solchen Proben wird bei der Bestimmung der isomeren Naphthalinmonosulfonsäuren eine relative Standardabweichung von 1%, bei der Bestimmung von drei isomeren β-Naphtholmonosulfonsäuren eine relative Standardabweichung von etwa 2% gefunden. In der Arbeit sind die mit Aluminiumstearat in Chloroform gemessenen UR-Spektren denen gegenübergestellt, die in Nujol aufgenommen sind. H. Specker

Zum Nachweis und zur Unterscheidung von Flavonen im Papierchromatogramm kann nach R. Neu[4] das bereits früher[5] beschriebene Tetraphenyl-diboroxyd dienen. Durch anschließende Behandlung der Chromatogramme mit quartären Ammoniumverbindungen wird die Sichtbarmachung der Flecken gesteigert. Das in den üblichen Lösungsmitteln entwickelte Papierchromatogramm der Flavone wird erst in eine gesättigte Lösung von Tetraphenyl-diboroxyd in Petroläther, dann in eine 1—2%ige wäßrige Lösung einer quartären Ammoniumverbindung getaucht und anschließend getrocknet. Als quartäre Ammoniumverbindungen wurden verwendet: N,N,N′,N′,-3-Pentamethyl-N,N′-diäthyl-3-azapentylen-1,5-diammoniumdibromid; β-Phenoxy-äthyldimethyl-ammoniumbromid; Dimethyl-(Alkyl)-benzyl-ammoniumbromid und Dimethylaminoessigsäure-dodecylamid-chlorbenzylat. Nach den bisherigen Ergebnissen, die an etwa 20 Flavonen bzw. ihren Glykosiden erhalten wurden, zeichnet sich folgendes Verhalten ab: Die Farbtöne der Flecken, die auch im Tageslicht zu erkennen sind, nehmen von grün über gelb, orange, rotorange nach rot mit der Anzahl der Hydroxylgruppen in den Aglykonen zu und sind abhängig vom Substitutionsort der Hydroxylgruppe im Benzo-γ-Pyron-Ring und im Seitenphenyl-Ring.

[1] Chem. Listy **50**, 752—755 (1956) [Tschechisch]. Collect. czechoslov. chem. Commun **21**, 965—969 (1956).

[2] Šedivec, V.: Chem. Listy **50**, 748 (1956); vgl. das vorhergehende Referat.

[3] Jap. Analyst **5**, 216—219 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zus. fass. refer.) Fac. of Engin. Univ. Tokyo (Japan).

[4] Naturwissenschaften **43**, 82 (1956). Fa.: Dr. Willmar Schwabe GmbH., Karlsruhe.

[5] Neu, R.: diese Z. **142**, 335 (1954).

Isomere Flavone sind unterschiedlich gefärbt. Beim Vorliegen als Glykosid nimmt der Farbton ab. Flavon-Glykoside mit wenig Hydroxylgruppen sind im Tageslicht nicht mehr sichtbar, lassen sich aber im UV-Licht erkennen. K. MACHNER

Zur Bestimmung von trans-π-Oxocampher setzen M. YAMAGISHI, M. YOKOO und S. INOUE[1] diesen mit einer abgemessenen Menge einer eingestellten Dinitrophenylhydrazinlösung zum entsprechenden Dinitrophenylhydrazon um. Das im Filtrat enthaltene überschüssige Dinitrophenylhydrazin wird im Azotometer mit Jod zu Stickstoff oxydiert, ebenso eine abgemessene Menge der Reagenslösung. Aus der Differenz der Stickstoffvolumina wird der Gehalt der Probelösung an trans-π-Oxocampher errechnet. H. SPECKER

Den qualitativen Nachweis und die halbquantitative Bestimmung der Hydrochloride von Aminen gründet S. DAL NOGARE[2] auf die Überführung des Chlor-Ions in Silberchlorid. Ein Amingemisch wird zunächst papierchromatographisch in bekannter Art in die einzelnen Bestandteile aufgetrennt. Zur qualitativen Prüfung werden die Chromatogramme an der Luft oder durch leichtes Erwärmen getrocknet und gleichmäßig mit einer 1%igen ammoniakalischen Silbernitratlösung besprüht. Man taucht dann die noch feuchten Papiere in 10%ige Essigsäure, anschließend in frischdestilliertes Wasser. Auf den Chromatogrammen zeigen sich nun im UV-Licht an Stelle der Hydrochloride schwarze metallische Silberflecke. — Für die halbquantitative Bestimmung werden aus den entwickelten und getrockneten Chromatogrammen die Flecke der Hydrochloride herausgeschnitten und in einem 20 ml-Becher mit 5 ml einer 0,1 m KNO_3-Lösung behandelt, durch die man einen Stickstoffstrom langsam perlen läßt. Anschließend titriert man den Chloridgehalt der Lösung mit einer wäßrigen, etwa $5 \cdot 10^{-4}$ n $AgNO_3$-Lösung nach dem potentiometrischen Verfahren von I. M. KOLTHOFF und P. K. KURODA[3] unter Verwendung einer Ag/AgCl-Elektrode als Indicatorelektrode und einer gesättigten Kalomelelektrode als Bezugselektrode. Eine Blindwertbestimmung wird mit entsprechendem Filterpapier durchgeführt, das dem verwendeten Lösungsmittelsystem ausgesetzt war. — Nach den beschriebenen Verfahren lassen sich noch 3 μg Chlorid-Ionen nachweisen. Die maßanalytische Bestimmung ist gut reproduzierbar, die erhaltenen Werte sind jedoch aus nicht näher untersuchter Ursache im Durchschnitt um etwa 12% zu niedrig. K. MACHNER

Coulometrische Bestimmung von aromatischen Aminen in Acetonitril. Nach R. B. HANSELMAN und C. A. STREULI[4] läßt sich die coulometrische Bestimmung aliphatischer und heterocyclischer Amine nach C. A. STREULI[5] auch auf aromatische Amine ausdehnen, wenn mit einem Zusatz von Hydrochinon als Antioxydans coulometriert wird, so daß eine Oxydation der Amine bei Gegenwart von Wasser z. B. durch elektrolytisch erzeugten Sauerstoff unmöglich ist. Untersucht wird zweckmäßig in Acetonitril mit 8 g Lithiumperchlorat-trihydrat im Liter als Leitsalz und Zusatz von 0,1 g Hydrochinon. Zwecks schneller Potentialeinstellung wird der Austausch der Netzanode gegen eine Platinspirale empfohlen. Die Bestimmung wird potentiometrisch zwischen einer Glaselektrode und einer Bezugselektrode verfolgt, die aus mit Silberchlorid bedecktem Silberdraht besteht und in

[1] J. pharmac. Soc. Japan, **75**, 1383—1384 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus. fass. refer.) Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd. (Japan).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 903 (1956). E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Wilmington, Del. (USA).

[3] Analyt. Chemistry **23**, 1304 (1951); vgl. diese Z. **136**, 51 (1952).

[4] Analyt. Chemistry **28**, 916—917 (1956). Amer. Cyanamid Co., Stamford, Conn.

[5] Analyt. Chemistry **28**, 130 (1956); vgl. diese Z. **153**, 297 (1956).

Acetonitril taucht, das an Lithiumchlorid und Silberchlorid gesättigt ist. Als Brükkenelektrolyt dient Lithiumperchlorat (2%ig mit Agar verfestigt). Mit einer Blindprobe wird zunächst Wasserstoff entwickelt, bis ein Potential erreicht ist, das 20 mV über dem Wendepunkt der potentiometrischen Kurve liegt; nach Zugabe der Probe in 2 ml Acetonitril wird dann wieder bis zu diesem Potential elektrolysiert. o- und p-Toluidin, o-Phenylendiamin und o- und p-Aminophenol (0,3—0,7 mg) werden auf 2% genau erfaßt. Bei Titration ohne Hydrochinonzusatz steigt der Fehler auf bis 10%. Die Bestimmung von 1-Naphthylamin gelingt auch mit Hydrochinon nur auf — 5% genau. K. Cruse

Identifizierung von Imidazol-Derivaten mit Hilfe der Papierchromatographie. R. W. Cowgill[1] beschreibt folgende Arbeitsweise zur Trennung von *4(od. 5)-COOH Imidazol*; *4,5-(COOH)$_2$ Imidazol*; *4(od. 5)-COOCH$_3$ Imidazol*; *4(od. 5)-CHO Imidazol*; *4(od. 5)-CH$_2$OH Imidazol*; *1-CH$_3$ Imidazol*; *2,4,5-(Me)$_3$ Imidazol*; *4(od. 5)-Br Imidazol*; *2,4,5-(Br)$_3$ Imidazol*; *Benzimidazol*; *L-Histidin*; *L-Histidinanhydrid*; *Phthalyl-DL-histidin*; *Methylester von L-Histidin*; *Methylester von Phthaly-L-histidin*; *Pilocarpin*; *Histamin.* — Chromatographiert wird absteigend mit dem Papier Whatman Nr. 52 (11,4 × 40 cm) in der mit Lösungsmittel gesättigten Kammer. Als Fließmittel werden 3 verschiedene Lösungen vorgeschlagen, da ein Lösungsmittel allein zur einwandfreien Trennung dieser Verbindungen nicht ausreicht. A) Äthylalkohol-Diäthyläther-Wasser-28%iges Ammoniak (4 : 5 : 1 : 0,1), B) Aceton-Chloroform-Wasser-28%iges Ammoniak (30 : 5 : 4 : 0,2), C) Essigsäure-n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (1 : 1 : 1 : 1). Alle Lösungsmittel, Ammoniak und Eisessig ausgenommen werden vor Gebrauch destilliert. Die Fließmittel A und B geben enger begrenzte Flecken als C. Ist die Menge der aufgetragenen Substanzen nicht größer als 0,05 Mikromol, so ist Fließmittel C vorzuziehen, das bei Anwendung größerer Mengen langgezogene Flecken gibt. — Zur Sichtbarmachung der Flecken kommen 2 Sprühreagentien in Frage und die Betrachtung des Chromatogramms unter der UV-Lampe. (Einige Flecken sind ohne Behandlung zu erkennen.) Das Diazoniumreagens (p-Diazobenzolsulfonsäure oder eine ähnliche Diazoniumverbindung) nach B. N. Ames und H. K. Mitchell[2] spricht sehr gut auf viele, aber nicht auf alle Imidazol-Derivate an. Das Jodreagens (1 g Jod in 100 ml 96%igem Alkohol gelöst) reagiert mit allen untersuchten Derivaten. Allerdings ist es bei Verwendung von Fließmittel C weniger gut geeignet. Bei ein und demselben Chromatogramm können beide Sprühreagentien und die Betrachtung unter der UV-Lampe gleichzeitig zur Anwendung kommen. Zuerst werden unter der UV-Lampe die sichtbaren Flecken lokalisiert, dann wird das Chromatogramm mit Jodreagens besprüht und wieder unter der UV-Lampe am besten bei durchfallendem Licht betrachtet und zum Schluß wird das Diazoniumreagens verwendet. Die Empfindlichkeit der Reagentien ist abhängig von der Art des Imidazol-Derivates. Näherungsweise gilt, daß mit dem Diazoniumreagens noch 10^{-3} und mit dem Jodreagens 10^{-2} Mikromole zu erkennen sind. Es ist zu beachten, daß auch Salze wie z. B. Ammoniumchlorid mitlaufen und auf diese Reagentien ansprechen. — Auch zweidimensional aufsteigend kann chromatographiert werden unter Verwendung desselben Papiers (20 × 20 cm). Die beste Reihenfolge der Fließmittel ist entweder C und dann A bzw. B oder A und dann B. H. Meyer

Ein colorimetrisches Bestimmungsverfahren für 2-Hydroxy-4,6-dimethylpyrimidin (HDP) haben C. R. Szalkowski und W. J. Mader[3] im Zusammen-

[1] Analyt. Chemistry **27**, 1519—1521 (1955). Univ. Berkeley, Calif. (USA).
[2] J. Amer. chem. Soc. **74**, 252 (1952).
[3] Analyt. Chemistry **27**, 1404—1408 (1955). Merck & Co., Inc. Rahway, N. J.

hang mit der Herstellung von *Nicarbazin* ausgearbeitet. Nach einer Untersuchung des Einflusses der einzelnen Reaktionspartner wird folgende *Vorschrift* angegeben: Zu 15 ml der Versuchslösung (enthaltend etwa 2—3 μg/ml HDP in absolutem Alkohol) fügt man 5,0 ml Sulfanilsäurereagens (1,0 g in 100 ml 0,4 n Schwefelsäure) und 5,0 ml 1%ige Natriumnitritlösung zu und mischt. Man stellt 15 min lang in ein Wasserbad von 65° C, läßt 1 Std bei Raumtemperatur stehen und mißt dann bei 540 mμ gegen eine Blindprobe der Reagentien. Die Eichkurve wird mit 15, 30, 45 und 60 μg HDP aufgestellt. Die Farbreaktion ist spezifisch für HDP, nur 2-Amino- und 2-Mercapto-4,6-dimethylpyrimidin geben eine ähnliche Färbung.

K. Wagner

Die papierchromatographische Trennung von Pyrimidin-Reduktionsprodukten beschreiben R. M. Fink, R. E. Cline, Ch. McGaughey und K. Fink[1]. Man führt die Entwicklung der Stoffgemische nach einer früher von Verff. beschriebenen Technik[2] unter Verwendung folgender Lösungsmittelsysteme durch: a) untere Phase einer Phenol—Wassermischung, b) obere Phase einer Mischung von sek. und tert. Butanol mit Wasser (5:1:5,6), c) n-Butanol—Essigsäure—Wasser (2:1:1). Die Sichtbarmachung der Substanzflecke erfolgt durch Besprühen der Chromatogramme mit 0,5 n Natronlauge und anschließende Behandlung der 30 min lang getrockneten Papiere mit einer Lösung von 1 g reinem p-Dimethylaminobenzaldehyd in 10 ml konzentrierter Salzsäure und 100 ml Äthanol. Anschließend wird 5 min in der Hitze getrocknet, dann werden die Chromatogramme 2—6 Std in einem gut gelüfteten Raum belassen. Verff. stellten für folgende Substanzen die R_f-Werte fest [Reihenfolge für Entwickler a), b) und c)]: Ureidobernsteinsäure 0,26; 0,14; 0,52. α-Ureidoglutarsäure 0,30; 0,20; 0,62. Dihydroorotsäure 0,34; 0,28; 0,43. α-Ureidopropionsäure 0,53; 0,22; 0,70. Allantoin 0,53; 0,38; 0,34. Isobarbitursäure 0,56; 0,53; 0,43. Uramil 0,57; 0,25; 0,58. 5-Ureidouracil 0,59; 0,37; 0,24. Citrullin 0,62; 0,28; 0,38. β-Ureidopropionsäure 0,62; 0,22; 0,65. Harnstoff 0,75; 0,49; 0,57. β-Ureidoisobuttersäure 0,78; 0,30; 0,76. 5-Aminouracil 0,78; 0,45; 0,36. Dihydrouracil 0,90; 0,55; 0,56. Dihydrothymin 0,94; 0,71; 0,69. α-Methylhydrouracil 0,94; 0,68; 0,67. Die quantitative spektrophotometrische Bestimmung dieser Stoffe erfolgt mit p-Dimethylaminobenzaldehyd bei 440 mμ, wie im Original eingehend beschrieben ist.

K. Söllner

Im Anschluß an die vorstehende Arbeit haben R. E. Cline und R. M. Fink[3] eingehende Untersuchungen über die *Reaktion zwischen p-Dimethylaminobenzaldehyd und den Ureidosäuren* angestellt. Die Intensität der entstehenden Farbe hängt sehr von den Versuchsbedingungen ab, nämlich von der Konzentration der verwendeten Lauge und Salzsäure, von dem Gehalt des Reagenses an p-Dimethylaminobenzaldehyd, von der relativen Luftfeuchtigkeit, der Geschwindigkeit des Luftstromes, der Temperatur usw. Es ist schwer, alle Bedingungen so einzuhalten, daß man bei Anwendung der Reaktion zur Bestimmung der Pyridinreduktionsprodukte die optimale Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit erreicht. Praktisch genügt es aber, bei der im Laboratorium vorhandenen Temperatur und Luftfeuchtigkeit zu arbeiten, das Besprühen und Trocknen der Chromatogramme nach Möglichkeit gleichzuhalten und das Chromatogramm der unbekannten Probe mit dem gleichzeitig und gleichartig hergestellten Chromatogramm einer Standardlösung zu vergleichen.

A. Kurtenacker

---

[1] Analyt. Chemistry **28**, 4—6 (1956). Univ. California, Los Angeles und Veterans Admin. Hospital Long Beach, Calif. (USA).

[2] Fink, K., u. C. McGaughey: Federation Proc. **13**, 207 (1954).

[3] Analyt. Chemistry **28**, 47—52 (1956).

Eine einfache Methode zur Mikrobestimmung von Harnsäure nach C. A. Dubbs, F. W. Davis und W. S. Adams[1] beruht darauf, daß Harnsäure ein scharfes Absorptionsmaximum bei 292 mμ hat und durch Uricase spezifisch und vollständig in nicht absorbierende Produkte umgewandelt wird. Daher bietet die Absorptionsabnahme nach Uricasewirkung ein direktes Maß für den Harnsäuregehalt einer Lösung. — *Zur Gewinnung einer Eichkurve* benutzt man eine Harnsäurelösung, die 2 mg Harnsäure in 200 ml 0,1 m Glycinpuffer (p_H 9,4) enthält. Je 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 und 10 ml werden mit Glycinpuffer auf 10 ml aufgefüllt. Die Absorptionswerte und die Konzentration ergeben eine geradlinige Kurve. Die Absorption folgt also dem Beer'schen Gesetz. — *Zur Harnsäurebestimmung im Urin* werden in jedes Reagensglas 9,9 ml einer Lösung von 40 mg Uricase [Worthington Biochem. Corp., Freehold, N. J. (USA)] in 1 l 0,1 m Glycinpuffer p_H 9,4, die im Kühlschrank aufbewahrt wurde, gegeben. Um vorzeitige Enzymwirkung zu vermeiden, werden dann je 100 μl dest. Wasser (1. Glas) bzw. 100 μl Harnsäurestandard (2. Glas) bzw. 100 μl Harn (8—18 Gläser) in die kleine an den Rand jedes Glases gehängte Tasse (s. Abb. 1) pipettiert. Diese Täßchen werden bei Beginn der Reaktion in die Reagensgläser mit Inhalt hineingekippt. Die offenen Gläser werden in ein 45° C warmes Wasserbad gesetzt. Der Inhalt wird 10 bis 20 sec durch vorsichtiges Aufleiten von Sauerstoff oxydiert und 4 bis 16 Std bei 45° C belassen. Hierbei verdampftes Wasser wird durch Auffüllen auf den gekennzeichneten ursprünglichen Meniscus aufgefüllt. *Die Untersuchung von Serum* wird auf die gleiche Art durchgeführt, jedoch läßt man 2 bis 16 Std bei Raumtemperatur stehen. Die Bestimmungen können nach 2 bis 4 Std beendet werden. Doch bietet die Absorptionsabnahmemessung nach Ablauf von 16 Std (über Nacht) Gewähr für größere Genauigkeit. — Bei Zusatzversuchen von 1 bis 2 μg Harnsäure zu je 1 ml Urin oder Serum wurden 95 bis 104% der zugesetzten Mengen wiedergefunden. H. Carls

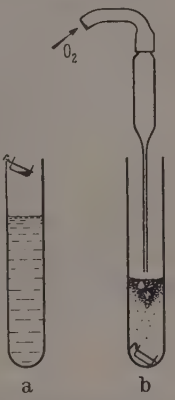


Abb. 1. Vorrichtung zur Mikrobestimmung von Harnsäure nach Dubbs u. Mitarb. *a* mit aufgehängter Tasse, *b* beim Aufleiten von Sauerstoff nach dem Hineinkippen der Tasse

IV. Spezielle analytische Methoden

4. Analyse von biologischem Material

Über die immunoelektrophoretische Analyse hat P. Grabar[2] berichtet. Es handelt sich hierbei um eine Elektrophorese in Agar-Gelschicht, in die zur Aufnahme zu untersuchender Eiweißproben ein Loch gestanzt ist und wo im Anschluß an die Elektrophorese seitlich Immunserum aufgegeben wird, dessen Antikörper senkrecht zur elektrophoretischen Wanderungsrichtung diffundieren und Präzipitinreaktionen hervorrufen, die als spezifische bogenförmige Zonen erscheinen. Die Gelplatten werden mit Papierstreifen an die Elektrodentröge mit Pufferlösung angeschlossen und mit 2,5—4 V/cm elektrolysiert (Serumproben 4 Std lang). Nach Elektrolysen bei höheren p_H-Werten wird vor Aufgabe des Immunserums 30 min

[1] J. biol. Chemistry **218**, 497—504 (1956). Univ. Los Angeles, Calif. (USA).
[2] Behringwerke-Mitt. H. **30**, 23 –41 (1955). Inst. Pasteur, Paris (Frankreich).

mit neutraler Pufferlösung behandelt. Die Präcipitinreaktionen erfolgen langsam, erste Zonen sind nach 48 Std feststellbar. Verschiedene Reaktionen sind auch nach 15 Tagen noch nicht beendet. Die Ergebnisse lassen sich auch im Bild festhalten, indem Photopapier unter die Platte gelegt wird und zur Ausschaltung von Oberflächenbildern unter Wasser aufgenommen wird. Eine Reihe immunologisch sehr interessanter Befunde, insbesondere die erzielbare starke Auffächerung von Elektrophoresezonen, wird eingehend erörtert. K. Cruse

Quantitative spektrographische Untersuchungen an einzelnen Strukturelementen von Zellen und Zellkernen können gegenüber den heute verbreiteten cytochemischen Arbeitsweisen umfassende Kenntnisse auch über solche biologischen Prozesse vermitteln, die nur in der unversehrten Zelle ablaufen. Ihre Durchführung wird von T. Caspersson[1] ausführlich diskutiert. Sie erfordert die Erfüllung einer Reihe von Bedingungen, die im wesentlichen durch die Größe der zu untersuchenden Objekte, ihre Inhomogenität und ihre Empfindlichkeit gegen die Vorbereitungs- und Meßtechnik gegeben sind. Das diesen Bedingungen genügende Instrumentarium ist unter Angabe der verschiedenen Meßzwecke in einer Tabelle zusammengefaßt. Besonders ausführlich beschreibt der Verf. einen hochauflösenden „Universalultramikrospektrographen" zur Bestimmung der Lichtabsorption in einzelnen Zellelementen vom kurzwelligen Ultraviolett bis zum Ultrarot; Hilfsgeräte übernehmen die Auswertung der Messungen (Registrierinstrument, Integrator) und die Bewegung des Objektes. Die Auflösung des Gerätes ist besser als 1 μ. In Verbindung mit einer Reihe von Zusatzgeräten können Trockengewichtsbestimmungen, ultramikrophotometrische Messungen, Bestimmungen einzelner Elemente und Messungen von Brechungsindices durchgeführt werden.

H. Specker

Die photometrische Kupferbestimmung im Serum mit Diäthyldithiocarbaminat ohne Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln beschreiben I. Ružđić und K. Blažević[2]. Zunächst werden die bisher üblichen Methoden mit ihren Fehlerquellen, besonders die nicht konstante Farbintensität des Kupferkomplexes in Lösung behandelt. Verff. erreichen diese Farbstabilität durch Zusatz von wäßriger Pektinlösung als Schutzkolloid. Die Intensität bleibt 12 Std unverändert. Das Beersche Gesetz ist im Bereich von 0,5—7 μg Cu in 15 ml Lösung erfüllt. — *Arbeitsweise.* 2 ml Serum + 6 ml Wasser werden mit 2 ml 20%iger Trichloressigsäurelösung unter Umrühren versetzt, 10 min in einem Wasserbad auf 90—95 C erhitzt und nach dem Abkühlen filtriert. Vom Filtrat bringt man 5 ml in ein 15 ml-Gefäß, fügt 1 ml gesättigte Natriumpyrophosphatlösung (zur Maskierung des Eisens), 2 ml dest. Ammoniak, 1 ml 0,05%ige Pektinlösung, 1 ml 0,2%ige Na-Diäthyldithiocarbaminatlösung zu, füllt zur Marke auf, mischt gut durch und mißt die Extinktion bei 440 mμ (Spektralphotometer Zeiss, 3 cm-Küvetten). — Ist nicht genügend Serum vorhanden, dann werden in einem Zentrifugenglas 1 ml Serum + 1 ml Wasser mit 2 ml Trichloressigsäure versetzt, wie oben erwärmt und 10 min zentrifugiert. Der Niederschlag wird zweimal mit je 2 ml 20%iger Trichloressigsäurelösung verrieben, 5 min erwärmt und zentrifugiert. Die klaren Flüssigkeiten werden vereinigt und wie oben behandelt. — Die Verläßlichkeit des Verfahrens wird an zwei Versuchsreihen überprüft, mit Standardkupferlösungen in Wasser und in Serum. Es schließt sich eine umfassende statistische Bearbeitung der Untersuchungen an, woraus ersichtlich ist, daß die große Genauigkeit der Methode durch Serumbestandteile nicht beeinträchtigt wird. H. Specker

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1—26. Med. Nobel-Inst., Karolinska Inst., Stockholm (Schweden).

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 288—298. Med.-chem. Lab., Zagreb (Jugoslaw.)

Eine schnelle Mikromethode zur Bestimmung von Serumcalcium in 0,1 ml Serum und eine Kontrollmethode zur Mg-Bestimmung beschreibt H. C. LEIFHEIT[1]. Die Summe Ca + Mg wird durch Titration mit Dinatriumdihydrogenäthylendiamintetraacetat („SED") unter Verwendung von Eriochromschwarz T als Indicator bei p_H 10—10,5 bestimmt. Für das mitbestimmte Mg werden 2 mg-% als mittlerer Wert im menschlichen Serum vom Ca-Wert abgezogen. Dann ist die Übereinstimmung mit den nach der CLARK-COLLIP-Methode[2] (Fällung als Oxalat und Titration mit Permanganat) gefundenen Werten gut. Der angenommene Mg-Wert wurde nach der Titangelbmethode nachgeprüft und für gut befunden. Die durch hohen Proteingehalt oder Hämolyse hervorgerufenen Fehler können vernachlässigt werden. — *Bestimmung von Calcium.* 0,1 ml Serum wird mit 2 ml einer Puffer-Indicatorlösung vermischt und mit SED-Lösung (90 mg/l) bis zum Umschlag nach Blaugrün titriert. Als Vergleichsfarbe dient eine Mischung von Serum und Puffer-Indicatorlösung. Zur Herstellung dieser Puffer-Indicatorlösung, die nur 2—3 Std haltbar ist, verdünnt man reinstes Äthanolamin mit frisch destilliertem Wasser bis zu einer Konzentration von 0,17 m und vermischt je 10 ml dieser Lösung mit 4 Tropfen Eriochromschwarz T-Indicatorlösung, zu deren Bereitung man 1 g Eriochromschwarz T in 250 ml reinem Methanol löst und mit 10 ml konz. Ammoniak versetzt. In gleicher Weise titriert man 0,1 ml einer 8 mg-% Ca enthaltenden bekannten Lösung und berechnet den Milligramm-Prozent-Gehalt durch Division der gefundenen Titrationswerte. Zur Errechnung des Ca-Gehaltes werden 2 mg-% für Mg subtrahiert. *Bestimmung von Magnesium.* Soll Ca nicht in der Probe bestimmt werden, so verwendet man direkt 2 ml Serum und verdünnt mit 2 ml Wasser, anderenfalls fällt man Ca als Oxalat nach CLARK-COLLIP[2] und verwendet 4 ml entsprechend 1,6 ml Serum der überstehenden Flüssigkeit. Zur Entfernung des Eiweißgehaltes versetzt man mit 6 ml 5%iger Trichloressigsäure, filtriert und fügt 5 ml des klaren Filtrats zu 3 ml dest. Wasser. Nach Zugabe von 1,0 ml 0,1%igem wäßrigem Polyvinylalkohol, 1,5 ml 0,05%iger wäßriger Titangelblösung und 2,0 ml 4 n Natronlauge vermischt man gut und mißt die Absorption der entstandenen Färbung, die 3 Std haltbar ist, bei 560 mμ. Mit Hilfe einer Eichkurve, die man entsprechend 0,5—2,0 ml Mg-Lösung (2 mg-Äquivalent/Liter) erzeugt, werden die Mg-Konzentrationen graphisch ermittelt. H. PLUSKAL

Um in Aschen von Geweben Calcium und Magnesium bestimmen zu können, schlagen R. L. GRISWOLD und N. PACE[3] ein Ionenaustauschverfahren vor. Dowex 50 (200—400 mesh), in üblicher Weise in die H-Form gebracht und gereinigt, wird in einer Säule von 10 cm Höhe und 0,5 cm Durchmesser angewendet. Das zu untersuchende Gewebe, z. B. 1 g Rattenleber, wird mit Salpetersäure und Perchlorsäure mineralisiert. Von der Lösung des Rückstandes in 50 ml Wasser werden 10 ml mit dem Austauscher behandelt. Hierbei werden Calcium, Magnesium und das Phosphat gebunden. Durch 3 ml n Salzsäure wird die Phosphorsäure entfernt, danach durch 6 ml 3 n Salzsäure das Magnesium und endlich durch 8 ml 3 n Salzsäure das Calcium (Durchlaufgeschwindigkeit 4 ml/Std). Jede Säule muß vor Gebrauch geprüft werden, weil wegen verschieden schnellen Durchlaufens Fehler entstehen können. Die Lösungen mit dem Calcium und Magnesium werden eingedampft und die Metalle komplexometrisch titriert. Störungen durch kleine Reste von Fe und Cu können durch KCN-Zugabe beseitigt werden. Aus Probeanalysen ergibt sich eine Ausbeute an Calcium von 100% und von Magnesium von 97% mit Abweichungen, die geringer als 5% sind. R. KLEMENT

[1] J. Lab. clin. Med. **47**, 623—633 (1956). Boston, Mass. (USA).

[2] CLARK, E. P., and J. B. COLLIP: J. biol. Chemistry **63**, 461 (1925).

[3] Analyt. Chemistry **28**, 1035—1037 (1956). Univ. Berkeley, Calif. (USA).

Die photometrische Bestimmung von freiem α-Aminostickstoff auf Grund der Farbreaktion mit Ninhydrin nach Cocking und Yemm[1] wird von H. Kalant[2] auf *Plasmaproben* übertragen, die mit 1%iger Wolframsäurelösung enteiweißt sind. Äthanol und Trichloressigsäure als Eiweißfällungsmittel befriedigen dabei nicht. Überschüssiges Ninhydrin oder Kaliumcyanid (als Reduktionsmittel) beeinflußt die Farbentwicklung ebenso wie der mögliche Peroxydgehalt von Methylcellosolve. Die Störung durch Metallsalze wird durch Citratpufferzusatz ausgeschaltet. Arterielles Hundeplasma ergibt nach dieser Methode (Evelyn 575 Filter) 4,91 ± 0,45 mg Aminostickstoff/100 ml; der entsprechende Gehalt in venösem Plasma beträgt 4,72 ± 0,46 mg/100 ml. H. Specker

Im Hinblick auf die papierchromatographische Trennung der jodhaltigen Verbindungen der Schilddrüse nach der Rundfiltermethode haben K. P. Chakraborty und N. C. Ganguli[3] die Eignung verschiedener Lösungsmittel untersucht und die R_f-Werte mehrerer Verbindungen mitgeteilt (Tab. 1). Verff. verwendeten ein Whatman-Filter Nr. 1 (18 cm ⌀), auf das jede der Substanzen (gelöst in n-Butanol, falls erforderlich unter Zusatz von 0,1 n Natronlauge) getrennt nebeneinander auf einem Kreis von 2 cm ⌀ aufgetragen wurde. Chromatographiert wurde nach der Rundfiltertechnik von N. C. Ganguli[4]. Nach der Entwicklung wurde das Papier an der Luft getrocknet, mit Ninhydrinlösung nach S. Lissitzky[5] besprüht und zur Ausbildung der Farbe über Nacht bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen gute Übereinstimmung mit den von J. Gross[6] mitgeteilten. Von den untersuchten Lösungsmitteln bieten die folgenden bessere Trennungsmöglichkeiten, als sich aus den R_f-Werten erkennen läßt: n-Butanol—2 n Ammoniak (1:1); n-Butanol—Pyridin—Wasser (4:4:1,5)[7] und n-Butanol—Dioxan —2 n Ammoniak (4:1:5). Die Anwendung der Methode auf die Trennung der jodhaltigen Verbindungen der hydrolysierten wie auch der nichthydrolysierten Schilddrüse wird noch bearbeitet.

Tabelle 1

R_f-Werte jodhaltiger Verbindungen der Schilddrüse mit verschiedenen Lösungsmitteln

Verbindung	I	II	III	IV	V	VI
Thyroxin	0,73	0,73	0,67	0,78	0,95	0,92
Trijodthyronin	0,82	0,80	0,81	0,82	0,94	0,95
Dijodthyronin	0,86	0,85	0,75	0,75	0,90	0,90
Dijodtyrosin	0,20	0,18	0,30	0,64	0,80	0,82
Monojodtyrosin	0,28	0,27	0,40	0,60	0,68	0,72
Tyrosin	0,26	0,25	0,34	0,44	0,42	0,68

Lösungsmittel: I n-Butanol, gesättigt mit 2 n Ammoniak; II n-Butanol—2 n Ammoniak (1:1); III n-Butanol—Dioxan—2 n Ammoniak (4:1:5); IV n-Butanol—Pyridin—Wasser (4:1:1,5)[7]; V n-Butanol—2 n Ameisensäure (1:1); VI n-Butanol —2 n Essigsäure (1:1); (bei nichtmischbaren Lösungsmitteln wurde die obere Schicht verwendet). F. Schärtl

[1] Cocking, E. C., and E. W. Yemm: Biochemic. J. **58**, XII (1954); Analyst **80**, 209 (1955); vgl. diese Z. **147**, 211 (1955); **149**, 318 (1956).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 265—266 (1956); Univ. Toronto (Canada).

[3] Naturwissenschaften **42**, 580—581 (1955). Univ. Stanford, Calif. (USA).

[4] Naturwissenschaften **42**, 486 (1955); vgl. diese Z. **154**, 352 (1957).

[5] In Gross, J.: Brit. med. Bull. **10**, 218 (1954).

[6] Brit. med. Bull. **10**, 218 (1954).

[7] Für dieses Lösungsmittel ist im Original das Mischungsverhältnis auf S. 580 mit 4:1:1,5, auf S. 581 mit 4:4:1,5 angegeben.

Eine Methode zur direkten in vivo-Bestimmung von Gesamtfett mit Hilfe von ^{85}Kr geben D. Davidsson, I. MacIntyre, A. Rapoport und J. E. S. Bradley[1] an. Das Verfahren beruht auf dem gleichen Prinzip wie die von G. T. Lesser, A. G. Blumberg und J. M. Steele[2] vorgeschlagene Methode, bei der die Fixierung von Cyclopropan durch das Fett gemessen wird. Die Verff. verwenden an Stelle des Cyclopropans Krypton-85, da Vorversuche am Menschen gezeigt hatten, daß die Aufnahme annähernd proportional ist dem Körperfett, das indirekt bestimmt wurde. Die Löslichkeit von Krypton in Öl, Wasser und in Flüssigkeiten, die extra- und intracellularen Flüssigkeiten gleichen, wurde bei verschiedenen Temperaturen gemessen, sowie auch der Einfluß von Eiweiß auf diese Löslichkeiten festgestellt. Auch die Kryptonaufnahme durch verschiedene Gewebe wurde ermittelt. In Tierversuchen konnte bereits die Brauchbarkeit der neuentwickelten Methode erhärtet werden. In dem kurzen Bericht werden keine experimentellen Angaben gemacht.

H. Kathen

Mikrobestimmung von α-Ketosäuren im Gehirn. Die durch Wirkung von Äpfelsäure (MDH)-, Milchsäure (LDH)- und Glutaminsäure (GDH)-Dehydrogenase auf entsprechende Substrate entstandenen α-Ketosäuren geben nach E. Robins, N. R. Roberts, K. M. Eydt, O. H. Lowry und D. E. Smith[3] mit 3-Chinolylhydrazin (CHH) Produkte, welche ein starkes UV-Absorptionsmaximum bei 305 mμ haben, so daß noch $4 \cdot 10^{-10}$ Mol von 13 verschiedenen α-Ketosäuren nachweisbar sind, während β-Ketosäuren, Ketone und Aldehyde nicht störende, unbeständige Produkte liefern. Der Nachweis von MDH und LDH in 0,1 μg und GDH in 0,5 μg Trockenhirn wurde dadurch ermöglicht, daß die UV-Absorption von aus zugesetztem DPN gebildetem DPNH (Diphosphopyridinnucleotid, reduziert) durch CHH verstärkt wird. — Für die Bestimmungen sind erforderlich: CHH-Stammlösung: 30 m Mol in 0,1 n HCl; Verdünnung 1:60 = 0,5 mMol für MDH und LDH in 0,21 n HCl; für GDH in 0,18 n HCL. — DPN + „90" aus Hefe (Sigma Chem. Comp.). — Puffer: Für MDH: 0,1 m 2-Amino-2-methyl-1-propanol p_H 10,6 und 0,015 n HCl; für LDH: 0,1 m 2-Amino-2-methyl-1-propanol p_H 9,8—9,9 und 0,05 n HCl; für GDH: 0,05 m-Veronalnatrium p_H 8,0—8,1 und 0,02 n HCl. — Substrate: 1 m Kalium-L-malat, von MDH-Hemmstoffen frei; 3 m Mononatrium-L-glutamat, p_H 8,0 –8,5. — Zuerst werden Puffer, Substrat und DPN in folgenden Mengenverhältnissen gemischt: für MDH: 1 ml, 50 μl, 1,5 mg; für LDH: 1 ml, 25 μl, 0,75 mg; für GDH: 1 ml, 30 μl, 3,6 mg. Darauf werden gefriergetrocknete Gewebestücke oder Homogenate vom Gehirn zugegeben: für MDH: 0,025—0,1 μg Trockenhirn entsprechend; für LDH: 0,07—0,25 μg; für GDH: 1—5 μg. Dem in ein Eisbad gestellten Reaktionsgemisch werden 10 μl des entsprechenden Puffers zugefügt und nach Mischung mit Parafilm überschichtet und 30 min für MDH und LDH in ein Wasserbad von 38° C, für GDH von 32° C gegeben. Wiederum im Eisbad erfolgt die Zugabe von 0,5 mMol CHH. Nach 1 Std Reaktionsdauer bei Raumtemperatur (22—28° C) wird vor der Absorptionsmessung für MDH und LDH mit 100 μl 0,01 n HCl, für GDH mit 40 μl 0,01 n HCl verdünnt. Die GDH-Probe muß zentrifugiert werden (5—10 min bei 2—3000 U/min), um die verhältnismäßig großen Mengen Gehirnsubstanz zu entfernen. Die molaren Extinktionskoeffizienten für DPNH in Gegenwart von CHH 10, 70, 190 und 250 min nach der Verdünnung sind 5960, 4910, 3880 und 3640. Die Berechnungen erfolgen nach der Gleichung:

$$\frac{\text{optische Dichte}}{\text{Gewicht } \mu g} \cdot \frac{\text{Endvol. } (\mu l)}{E_T} \cdot \frac{60}{\text{min (Inkubationszeit)}} \cdot 1000 = \text{Mol oxydiertes}$$

[1] Biochemic. J. **62**, 34 P (1956). Postgraduate Medical School, London W 12.

[2] Amer. J. Physiol. **169**, 545 (1952).

[3] J. biol. Chemistry **218**, 897—909 (1956). Washington Univ. School of Med., St. Louis, Mo. (USA).

Substrat je Kilogramm je Stunde. ET = molarer Extinktionskoeffizient bei 305 mμ für die Verbindungen von CHH mit α-Ketosäure und DPNH. — Die Methode wurde zu quantitativen histochemischen Untersuchungen über die Verteilung von GDH, MDH und LDH in weißer und grauer Hirnmasse von Kaninchen und Affen benutzt. H. CARLS

Zur Abtrennung von Peptiden aus salzhaltigen Lösungen entwickeln N. HAUGAARD und E. S. HAUGAARD[1] eine gegenüber der Arbeitsweise von M. E. CARSTEN[2] vereinfachte Ionenaustauschermethode. Eine Säule (0,9 cm ⌀, 11 cm Höhe), die mit Dowex-50 Harz in der Ammoniumform (aus der Na-Form durch 15 Std Stehenlassen in 2 m Ammoniumhydroxydlösung) beschickt ist, wird bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion gewaschen und anschließend zunächst mit 3 ml 0,1 m Citratpuffer (p_H 3,3), hierauf mit der zu entsalzenden Probe ($p_H < 7$) kontinuierlich oder in 5 ml-Teilen beschickt. Man wäscht mit 3mal 2 ml 0,01 n Essigsäure, eluiert das Peptid mit 0,05 m Ammoniumhydroxydlösung und fängt eine 5 ml-Probe, dann in 2 ml-Proben auf. Sobald das Eluat alkalisch wird, erscheint das Peptid, dessen Fraktionen eingedampft zur Papierchromatographie oder zur Hydrolyse verwendet werden können. H. ZIMMERMANN-TELSCHOW

Die Lipoproteinwanderung bei der Elektrophorese ist nach A. COMFORT[3] deutlich erhöht, wenn Acetonhomogenisate (bei —20 °C hergestellt, bei Raumtemperatur getrocknet) von tierischen Geweben (von Maus, Kaninchen oder Ente, nicht vom Frosch) mit Plasma-Lipoprotein versetzt und in üblicher Weise der Elektrophorese unterworfen werden. Der Effekt ist typisch für den sog. Klärfaktor, der auch nach Heparininjektion beobachtet wird. Beide Effekte sind jedoch nicht identisch. K. CRUSE

Eine modifizierte zweidimensionale Zonenelektrophorese für Mucoproteide in Serum und Harn gibt R. L. MARKHAM[4] an. Ein Papierstreifen mit der ersten Elektrophorese bei p_H 8,6 (Veronalpuffer) wird nach mäßigem Trocknen in den gleich breiten aber etwas längeren Ausschnitt des zweiten Papieres eingepaßt. Bei p_H 4,4—4,6 (Citronensäure-Natriumphosphatpuffer) erfolgt rechtwinklig zur ersten die zweite Elektrophorese. Man kann auch auf dem gleichen Bogen arbeiten, wenn man in der Kälte den Veronalpuffer mit 66%igem Aceton entfernt. Die beiden Mucoproteide M-1 und M-2, die sich eindimensional mit α_1- und α_2-Globulin decken, werden zweidimensional von diesen glatt getrennt. Die Untersuchungen wurden an Patienten mit akuter rheumatoider Arthritis ausgeführt. E. MÜLLER, Würzburg

Bestimmung des Blutzuckers. F. LOHSS[5] geht von der Feststellung aus, daß keine der vielen, bisher bekannten Methoden zur Bestimmung des Blutzuckers allen Erfordernissen, welche man an eine Standardmethode stellt, entspricht. Unter Hinweis auf die Gegenüberstellung der Analysen verschiedener Laboratorien von K. HINSBERG und K. LANG[6] betont er, daß labortechnische Mängel Fehldiagnosen und falsche Therapie verursachen können. Nach einigen kurzen physiologischen und chemischen Vorbemerkungen bringt der Verf. zunächst eine Besprechung der Ferricyanidmethoden zur Blutzuckerbestimmung. Es folgen Besprechungen der Pikrat- und Kupfermethoden, der Blutentnahme, Diagnostik und Fehlermöglichkeiten. Als in der Praxis bewährte Vorschriften werden die Blutzuckerbestimmung

[1] C. R. Trav. Lab. Carlsberg, Sér. chim. **29**, 347—349 (1955).
[2] J. Amer. chem. Soc. **74**, 5954 (1952).
[3] Biochemic. J. **63**, 2 P (1956). Univ. College, London W. C. 1.
[4] Nature (London) **177**, 125—126 (1956). Royal Free Hosp., London.
[5] Röntgen- u. Lab.-Praxis **8**, 284—289, 319—322 (1955); **9**, 38—44, 111—119 (1956). Univ. Frauenklinik, Tübingen.
[6] Medizinische Chemie, Verlag Urban & Schwarzenberg, München, Berlin 1951.

nach HAGEDORN und JENSEN und eine photometrische Anwendung einer Kupfermethode nach SOMOGYI (1952) mit dem Farbreagens von NELSON eingehend besprochen (64 Literaturzitate). H. CARLS

Einen Nachweis sowie die Bestimmung von Sorbose im Blut und Harn geben K. TÄUFEL und K. MÜLLER[1] an. Die Bestimmung macht von der Tatsache Gebrauch, daß Glucose und in den in Frage kommenden kleinen Mengen auch Fructose von Hefesuspensionen quantitativ adsorbiert werden[2, 3]. Die *Hefesuspension* stellt man folgendermaßen her: 100 g frische Bäckerhefe werden in 400 ml Wasser feinst zerteilt, abgenutscht und mehrmals mit viel Wasser gewaschen. Statt dessen kann man auch abwechselnd zentrifugieren und suspendieren. Aus der gereinigten Hefe stellt man eine 25%ige Suspension her, die im Kühlschrank beschränkte Zeit haltbar ist. Vor Gebrauch muß das Wasser nach Zentrifugieren erneuert werden. — *Bestimmung von Sorbose im Blut.* In ein 10 ml-Zentrifugenglas gibt man 2,3 ml Wasser, 0,2 ml Vollblut, 1 ml Hefesuspension und schüttelt 5 min kräftig. Unter weiterem Schütteln setzt man 0,5 ml einer Lösung zu, die aus gleichen Teilen 0,67 n Schwefelsäure und 10%iger Na-Wolframatlösung besteht. Nach kurzer Zeit wird 5 min zentrifugiert. Vom Überstand gelangen 2 ml, bei hohem Sorbosegehalt nur 1 ml zur Bestimmung. Dazu bringt man das Volumen mit Wasser auf 9 ml, setzt 2 ml Kaliumcyanoferrat(III)-lösung zu, erhitzt 15 min im siedenden Wasserbad und verfährt weiter nach HAGEDORN-JENSEN. Nur exakte Volumenabmessung aller Bestandteile gewährleistet gute Resultate. Zur Auswertung wird das Ergebnis der HAGEDORN-JENSEN-Tabelle entnommen, da 2 ml Zentrifugat 0,1 ml Blut entsprechen. Da Sorbose ein geringeres Reduktionsvermögen als Glucose besitzt, muß der Tabellenwert mit dem empirischen Faktor 1,05 multipliziert werden. Die Eigenreduktion der Hefesuspension muß in Abzug gebracht werden. Fehlt Sorbose im Blut, so erhält man die Restreduktion. Der Fehler schwankt zwischen —5,00% und +3,75% Sorbose. — Für die *Bestimmung im Harn* benutzt man die Polarisation: der geklärte, eiweißfreie Harn wird polarimetriert. Nach Zugabe von 1 g Bäckerhefe/100 ml Harn und 5stündigem Erwärmen auf 30—37° C wird abermals polarimetriert. Man erfaßt so nur die Sorbose, $[\alpha]_D^{20°} = -42{,}27°$ C. Fehlen gepaarte Glucuronsäuren und β-Oxybuttersäure, so ist die Drehung des normalen Harns —0,2°, was als Nullpunkt zugrunde gelegt wird. Berechnung an einem Beispiel: Drehung vor der Vergärung (G + S) = +0,2°; Drehung nach der Vergärung (S) = —0,5°; Nullpunkt = —0,2°; Drehvermögen der Glucose: G = +0,2 — (—0,5) — (—0,2) = +0,9°; Drehvermögen der Sorbose: S = —0,5 — (—0,2) = —0,3°. Die Fehlergrenze liegt unter 10%. Zum *Nachweis von Sorbose* bringt man 0,01 ml Plasma auf einen Chromatographierstreifen, entwickelt 3—4 Std absteigend mit Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 5), trocknet, besprüht mit einer frisch bereiteten Lösung von 10 ml 1%igem alkoholischem Resorcin + 90 ml 40%iger Trichloressigsäure und trocknet 5 min bei 105° C. Rotfärbung zeigt Sorbose (Ketosen) an. Nachweisgrenze etwa 20 mg/100 ml. Für den Harn verfährt man sinngemäß. Vergleich mit bekannten Sorbosekonzentrationen läßt quantitative Schätzung zu. E. MÜLLER

Zur turbidimetrischen Bestimmung von Hefe-Mannan bzw. Glykogen fällen J. A. CIFONELLI und F. SMITH[4] mit *Concanavalin-A.* — Zur Gewinnung der hierzu erforderlichen Concanavalin A-lösung wurde Jackbohnenmehl mit der zehnfachen

[1] Biochem. Z. **327**, 267—272 (1955). Institut für Ernährungsforschung, Potsdam, Rehbrücke.

[2] SOMOGYI, M.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. **24**, 320 (1926/27); J. biol. Chemistry **75**, 39 (1927).

[3] RAYMOND, A. L., and J. G. BLANCO: J. biol. Chemistry **79**, 649 (1928).

[4] Analyt. Chemistry **27**, 1639—1641 (1955). Univ. St. Paul, Minn. (USA).

Menge 2%iger Kochsalzlösung 10 min geschüttelt und dann zentrifugiert. Darauf wurde das Zentrifugat zur Entfernung von inertem Protein mit 2 ml 2 m Acetatpuffer von p_H 4.2 (je 200 ml Extrakt) versetzt, nach 1 Std zentrifugiert, die Lösung auf 50—55° C erwärmt und nach 30 min bei Raumtemperatur zentrifugiert. Zur Stabilisierung wurden dann 5% Polyvinylalkohol zugegeben. Im Kühlschrank ist die Lösung mehrere Monate haltbar. — Hefemannan wurde aus Backhefeautolysat durch Fällung mit alkalischer BENEDICT-Lösung gewonnen, nach W. N. HAWORTH, E. L. HIRST und F. A. ISHERWOOD[1] gereinigt und im Vakuum bei 56° C getrocknet. Spuren von Kupfer, die vielleicht eine leichte Grünfärbung des Mannan verursachen, können durch Behandeln mit dem Kationenaustauscher Amberlite IR-120 entfernt werden. Mannan hatte die von HAWORTH angegebene spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = +88°$ (Wasser, $c = 1{,}0$). — Menschliches Leberglykogen wurde nach M. ABDEL-AKHER und F. SMITH[2] gereinigt. Kaninchenleberglykogen wurde mit Alkohol fraktioniert. Beide Glykogenpräparate hatten die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{23} = +195°$ (Wasser, $c = 0{,}5$). Zur turbidimetrischen Bestimmung wurden 1 ml wäßrige Lösung von 10—100 µg Hefemannan bzw. von 100—1000 µg Glykogen mit 9 ml Concanavalin-A-Lösung bei Raumtemperatur gemischt und nach 10 min wurde die Absorption im Evelyn-Colorimeter mit Filter Nr. 420 gemessen. Der Gehalt wurde mit einer mit Standardpräparaten gewonnenen Eichkurve ermittelt. Das Optimum des p_H-Werts liegt bei 5—6. Glykogen bzw. Hefemannan können auch in Gegenwart von Proteinen bestimmt werden. Die vorherige Isolierung der Polysaccharide soll sich daher erübrigen. In glykogenhaltigen Hefemannan-Lösungen kann das Glykogen in Gegenwart von Concanavalin-A vor der Hefemannan-Bestimmung durch Speichel-(α)-Amylase in einigen Minuten zerstört werden. Die Reaktion kann umgekehrt auch für die Bestimmung von α-Amylase benutzt werden. Oxydationsprodukte der Polysaccharide reagieren nicht mit Concanavalin A-lösung. H. CARLS

Zur turbidimetrischen Bestimmung der Gelatine in biologischem Material eignen sich nach T. I. PŘISTOUPIL, V. TOMANOVÁ und J. NIKL[3] die Fällungsreaktion mit Schwefelsäure nach CH. ROGERS[4] und die Fällung mit Tannin. Bei dem ersten Verfahren ist für jedes Gelatinemuster eine besondere Eichkurve erforderlich. In Gegenwart von Plasmaeiweißstoffen verfährt man folgendermaßen. Man fügt zu 1 ml Plasma 1, 2, 3, 4 und 5 ml 0.1%ige Gelatinelösung, ergänzt mit Wasser auf 17 ml, fügt 2 ml 50%ige Trichloressigsäure zu und zentrifugiert. Den überstehenden Flüssigkeiten entnimmt man je 5 ml und setzt langsam je 1 ml konz. Schwefelsäure zu. Nach 10 min (in dieser Zeit ist bei Raumtemperatur die maximale Trübung erreicht) photometriert man (Photocolorimeter B. LANGE, blaugrünes Filter). Ein NaCl-Gehalt von über 0.9% setzt die Trübungsintensität herab. — Bei der Tanninmethode besitzt der p_H-Wert der Lösung entscheidende Bedeutung. Am besten fällt man bei p_H 4,5—5.5. Konzentrationen von 0,5—1% NaCl sind ohne Einfluß auf die Trübung. Die Eichkurve erhält man in Gegenwart von Plasma, indem man in 4 Reagensröhrchen je 0.25 ml Plasma mit je 0.25 ml 6, 4, 2 und 1%igen Gelatinelösungen versetzt, 4.5 ml 5%ige Trichloressigsäure zufügt und gegebenenfalls 10 min zentrifugiert. Von der überstehenden Lösung pipettiert man 0.2 ml in 9.8 ml 0.3%ige Tanninlösung in physiologischer NaCl-Lösung. Nach 25 min mißt man die Extinktion gegen eine Blindprobe (ohne Gelatine). Der maximale Fehler beträgt ± 10%. H. FREYTAG

[1] J. chem. Soc. (London) **1937**, 784.

[2] J. Amer. chem. Soc. **73**, 994 (1951).

[3] Chem. Listy **50**, 386—387 (1956) [Tschechisch]. Inst. Hämatologie u. Blut-Transfus. Prag.

[4] J. clin. Pathol. **23**, 638 (1953).

Die papierchromatographische Isolierung und quantitative Bestimmung von Glucosamin (I) und Galactosamin (II) aus Hydrolysaten von Chitin beschreiben F. G. Fischer und H. J. Nebel[1]. 15—150 mg entfettetes Chitin übergießt man in einem Reagensglas mit 1 ml konz. Salzsäure, verschließt mit einem Gummistopfen, läßt bis zu 12 Std bei Raumtemperatur stehen und erwärmt anschließend 2—4 min auf 50° C. Nach dem Abkühlen setzt man 0,8 ml Wasser zu, schmelzt das Reagensglas zu und erhitzt 4 Std im siedenden Wasserbad. Nach dem Verdünnen des Hydrolysates mit Wasser bis zu einem Gehalt von 200—800 μg Hexosamin ml, entsäuert man die Lösung durch vorsichtigen Zusatz von Silbercarbonat bis auf p_H 4—5, wobei eine Alkalisierung sorgfältig vermieden werden muß, und zentrifugiert. Nun bringt man soviel der Lösung auf einen Startstrich von 2 cm Länge, daß in jedem Startflecken 5—50 μg I und II vorhanden sind und chromatographiert nach einem von Verff. früher beschriebenen Verfahren[2] senkrecht zur Richtung der Papierfaser mit Pyridin-Essigester-Wasser-Eisessig 5:5:3:1 (V/V) bei 20° C, wobei der Entwicklungsbehälter mit Pyridin-Essigester-Wasser 11:40:6 (V/V) als Luftsättigungsflüssigkeit beschickt wird. Nach 48 stündiger Entwicklung hat sich I etwa 18 cm, II etwa 15 cm weit von der Startlinie entfernt und ist von anderen Hydrolysenprodukten völlig getrennt. Bei Durchführung des Formazanverfahrens[2] mit Triphenyltetrazoliumhydroxyd bzw. der Ninhydrinreaktion[2] gelingt die quantitative Ermittelung von I und II mit einer mittleren Fehlergrenze von 1—3% bzw. 2—4%. K. Söllner

Für die quantitativ-maßanalytische Bestimmung des Antibioticums Chloramphenicol durch die Bestimmung des mit Natronlauge abspaltbaren Chlors empfehlen W. Awe und H. Stohlmann[3] die Soda-Natriumhydroxydschmelze der schweizerischen Pharmakopöe, Supplement II (1955), durch viertelstündiges Kochen mit 15%iger Natronlauge zu ersetzen. Die Titration der Chlor-Ionen erfolgt dann in salpetersaurer Lösung nach Volhard unter Zusatz von Toluol. K. Wagner

Die Chromatographie der Ellagsäure und ihre Verteilung in Pflanzen beschreibt E. C. Bate-Smith[4]. Ellagsäure kann auf einem Chromatogramm mit Forestal-Lösungsmittel[5] [Essigsäure-konz. Salzsäure-Wasser (100:10:30)] sogleich durch ihre kennzeichnende, leicht violette Fluorescenz im UV-Licht erkannt werden, die durch Ammoniakdämpfe in ein sehr blasses Gelb wechselt. Der R_f-Wert beträgt 0,33 (im Vergleich zu Cyanidin R_f 0,50). Bei Anwendung der oberen Phase von Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5) ist der R_f-Wert 0,18—0,21 (im Vergleich zu Phloroglucin R_f 0,65). Bei beiden Lösungsmitteln besteht die Neigung zu einer Schwanzbildung. Bei der Untersuchung der einzelnen Pflanzenfamilien (Zusammenstellung der Ergebnisse im Original) gibt ein Methanolextrakt des nichthydrolysierten Gewebes im positiven Fall eine charakteristische Reaktion, wenn mit verdünnter Essigsäure und Natriumnitrit behandelt wird. Der Extrakt wird erst gelbbraun, dann schmutzigbraun bis dunkel-negerbraun, je nach der Konzentration der Ellagsäure. Reine Ellagsäure dagegen wird bei Zugabe von Essigsäure und Nitrit zur methanolischen Lösung langsam gelb, vertiefend bis braunorange. Meist wird Ellagsäure von Myricetin und Leuko-Delphinidin begleitet. K. Wagner

---

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **302**, 10—19 (1955). Univ. Würzburg.

[2] Fischer, F. G., u. H. Dörfel: Biochem. Z. **324**, 544 (1953); Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **297**, 164 (1954); Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **301**, 224 (1955); vgl. diese Z. **148**, 310 (1955/56).

[3] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **289**, 276—278 (1956). Techn. Hochschule Braunschweig.

[4] Chem. and Ind. **1956**, R 32—R 33. Low Temperat. Res. Station, Cambridge.

[5] Bate-Smith, E. C.: Biochemic. J. **58**, 122 (1954).

Die Absorptionsspektren von Steroiden in „100%iger" Phosphorsäure eignen sich nach W. J. Nowaczynski und P. R. Stevermark[1] zu deren Identifizierung. Darstellung der „100%igen" Phosphorsäure (100% PS): Man löst 79 g P_2O_5 (p.a.) in 100 g 59 ml) 85%iger Phosphorsäure (D1.7) und filtriert nach $^1/_2$ Std durch Glaswolle. Diese Säure ist sehr viscos: man muß sie daher vor dem Gebrauch auf 100° C erhitzen. Man bringt soviel 100%ige PS zu dem betreffenden trockenen Steroid, daß daraus eine Konzentration von 25 µg/ml resultiert. Diese Lösung und ein Leerwert aus 100% PS werden 20 min in einem Ofen aufbewahrt, der auf 107 ± 2° C gehalten wird. Dann rührt man jede Probe mit einem Glasstab gut durch und bringt sie in die Quarzküvette eines Spektralphotometers. Die Verff. verwendeten das Beckman-DU Gerät und Küvetten von 1 cm Schichtdicke. Die Spektren bestimmt man zwischen 220 und 600 mµ. Sie sind mindestens 24 Std stabil. – Die Verff. bringen die Spektren von 34 Steroiden, davon 2 aus der Oestrogen-, 5 aus der Androstan-, 5 aus der Etiocholan-, 19 aus der Pregnan- und 3 aus der Allopregnanreihe. Es ist dabei eine Abhängigkeit der Spektren von der Steroidkonstitution zu beobachten. So hat die Δ^4-3-Ketogruppe eine starke Absorption im Bereich 275—290 mµ. Die Steroide ohne Seitenkette, aber mit einer Keto- oder Oxygruppe an C-17 zeigen eine selektive Absorption zwischen 295 und 305 mµ. Andererseits ergaben keine Steroide ohne α-Ketolseitenkette eine selektive Absorption unterhalb 290 mµ. — Die Farbentwicklung mit 100% PS kann auch zur quantitativen Bestimmung von Steroiden herangezogen werden, wie mit Corticosteron und Aldosteron (0—24 µg/ml) gezeigt wurde. Der Vorteil der Methode besteht in der Beständigkeit der Spektren, ein Nachteil in der hohen Viscosität der 100% PS. Die Arbeit enthält nur Angaben über Versuche mit Reinsubstanzen. H. Pelzer

Über die Deuterisierung von Steroiden und deren Verwendung in Isotopenverdünnungsanalysen berichten S. L. Jones, I. D. Robinson, B. H. Arison und N. R. Trenner[2]. Die Deuterisierung der Steroide erfolgt im wesentlichen nach der Methode von D. K. Fukushima und T. F. Gallagher[3] unter Verwendung von Platinkatalysator und 70%iger Deuterioessigsäure. Diese wurde dargestellt durch einstündiges Rühren von 80 ml Essigsäureanhydrid mit 56 ml 99,5%igem Deuteriumoxyd bei Raumtemperatur. Die Atomprozente Deuterium des jeweiligen Endproduktes bestimmt man nach Verbrennung des Steroids durch Messung des erhaltenen Wassers im UR-Spektrophotometer bei 3,98 µ[4]. — Zur praparativen Reinigung der deuterisierten Steroide Hydrocortison I und 17-Hydro-11-desoxycorticosteron II benutzten die Verff. die Gegenstromverteilung zwischen Butanol-Isooctan und Wasser-Butanol. Zur Bereitung dieses Systems wurde die 20%ige Lösung von Butanol in Isooctan mit dem gleichen Volumen Wasser geschüttelt. Im Gleichgewicht befindet sich ungefähr $^1/_4$ des Butanols in der wäßrigen Phase. In diesem System ist der Verteilungskoeffizient von I 0,57, von II 7,3, so daß man die beiden Verbindungen schon in einer 5-Stufenverteilung befriedigend trennen kann. — Als Anwendungsbeispiel bringen die Verff. die Bestimmung der beiden Steroide bei einer mikrobiologischen 11-Oxylierung von II zu I. Der die Steroide enthaltende Fermentansatz kommt in einen Hochgeschwindigkeits-Homogenisator und wird mit 100 mg Deuterio-I und Deuterio-II (in Methanol) versetzt. Nach 20 min Homogenisierung destilliert man im Vakuum etwa $^1/_5$ der Flüssigkeit ab und homogenisiert noch einmal 10 min mit 10 Vol Äthylenchlorid.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **58**, 453—460 (1955). Hôtel-Dieu Hosp., Montreal.
[2] Analyt. Chemistry **28**, 482—483 (1956). Merck & Co., Inc., Rahway, N. J. (USA).
[3] J. biol. Chemistry **198**, 871 (1952).
[4] Trenner, N. R., B. H. Arison and R. W. Walker: Appl. Spectroscopy **4**, 7 (1953).

Die Emulsion läßt sich in einem Scheidetrichter trennen und die Äthylenchloridphase durch Filtrieren in einer Filternutsche als völlig klare gelbe Flüssigkeit erhalten. Nach dem Waschen mit 2mal ½ Vol gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wird unter Stickstoff zur Trockne gedampft und die Gegenstromverteilung vorgenommen. Die beiden Steroidfraktionen (I und II) werden eingedampft und zur weiteren Reinigung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert. Erst im reinen Acetat wird der Atomprozent-Gehalt an Deuterium ermittelt. Das Ergebnis der Messung bei 3,98 μ muß, wenn nötig, wegen des natürlichen Überschusses korrigiert werden. Dann ergibt sich für die anfangs in der Probe enthaltene unbekannte Steroidmenge: $W_s - (C_t/C_f - 1) \times W_t \times M_s/M_t$, wobei W_s = Gewicht des ursprünglich enthaltenen Steroids, W_t = Gewicht des zugefügten tracers, C_t = Atomprozent D im tracer, C_f = Atomgewicht D in der isolierten Verbindung, M_s = Molekulargewicht des betreffenden Steroids, M_t = Molekulargewicht des Trägersteroids sind. Die Werte für C_t müssen die Atomprozente D im Acetat, nicht im freien Alkohol sein. — Genaue Testversuche ergaben, daß bei dieser Art der Aufarbeitung der D-Gehalt der zugesetzten Steroide nicht merklich verändert wird. H. Pelzer

Eine elutionschromatographische Trennung und die direkte colorimetrische Bestimmung von freiem und verestertem Cholesterin in Organ- und Serumfetten beschreiben H. Schön und F. Gey[1]. Bei dem neuen Verfahren werden die Fehler der bisherigen Methoden vermieden, die sich besonders beim Verseifen der Cholesterinester infolge Sauerstoffempfindlichkeit des Cholesterins ergeben. Das Prinzip der neuen Methode beruht darauf, daß nach Extraktion der Lipoide eine bekannte Menge davon an einer Aluminiumoxydsäule durch Elutionschromatographie mittels Petroläther-Äthermischungen getrennt wird. Die Fraktionen des freien und veresterten Cholesterins werden dann mittels der Tschugaeff-Reaktion colorimetrisch bestimmt. Die Analysenfehler betragen ± 2—5%. Die umfangreiche und ausführliche Arbeitsanweisung ist dem Original zu entnehmen. H. Meyer

Bestimmung von Desoxycholsäure und Cholsäure. M. Lambiotte[2] empfiehlt zur *Bestimmung von Desoxycholsäure (DC)* eine Modifikation des Verfahrens von K. Kaziro und T. Shimada[3]. Ungenauigkeiten und Streuung dieser Methode sind beseitigt. — *Ausführung.* In einem Rohr von 2×9 cm verdampft man die alkoholische Untersuchungslösung unterhalb 70° C unter Luftstrom, spült mit Alkohol die Wände und verdampft ihn ebenfalls. Den Rückstand löst man in 4 Tropfen 95%igem destill. Alkohol und setzt schnell 2 ml folgender, frisch bereiteter Lösung zu: 20 ml 75 Vol%ige Schwefelsäure p.a. werden tropfenweise mit 0,6 ml vakuumdestilliertem und im Kühlschrank aufbewahrtem Benzaldehyd versetzt. Nach Mischen erhitzt man 5 min im Wasserbad, kühlt in Wasser, setzt 1,5 ml Äthylacetat p.a. zu und mißt sofort bei 6150 Å. Leerwerte und Standardlösungen von DC laufen mit. Mit einem durchschnittlichen Fehler von — 0,9% lassen sich 15—100 μg DC bestimmen. — Für die *Bestimmung der Cholsäure (C)* verwendet Verf. eine Modifikation der Methode von R. Gregory und T. A. Pascoe[4]. — *Ausführung.* Die alkoholische Lösung, die 0,1—0,25 mg C und weniger als 2 mg DC enthält, wird wie oben verdampft. Man löst den Rückstand in 2,5 ml Eisessig p.a., setzt 1 ml Furfurollösung (0,9%ige

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **303**, 81—90 (1956). Medizin. Forschungsanst., Max-Planck-Gesellsch. Göttingen.

[2] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **37**, 1023—1030 (1955). Inst. Biol., Paris und freie Univ., Brüssel.

[3] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **254**, 57 (1938).

[4] J. biol. Chemistry **83**, 35 (1929).

wäßrige Lösung von destilliertem Furfurol, im Kühlschrank 3 Monate haltbar) und 6 ml 16 n Schwefelsäure zu, erwärmt im Wasserbad 30 min auf 65° C, kühlt in Wasser und mischt sorgfältig mit 3 ml 97%igem, destilliertem Äthanol. Bei 6750 Å wird schnell gemessen (wie oben). Der Fehler beträgt etwa 3%.

E. Müller, Würzburg

Zur elektrophoretischen Trennung der Konstituenten von Gallensaft benutzen P. Dessi und T. Franco[1] *drei Arbeitsweisen: In dem Gerät nach* Durrum zur kontinuierlichen Elektrophorese mit seitlichen Elektroden, wurde das Prüfmaterial mittels einer 3 mm-Zunge dem Papierstreifen (Whatman Nr. 2) und negativen Pol zugeführt. Die Pufferlösung (0,025 m Natriumdiäthylbarbiturat und 0,005 m Diäthylbarbitursäure) besaß p_H 8,5 und 0,1 Ionenstärke. Die Spannung betrug 250—400 V, die Dauer der Elektrophorese 48 Std. *Zur Untersuchung im* Tiselius*-Gerät* wurde das Material 1 : 1 verdünnt und bei + 2° C gegen die Veronal-Veronal-Na-Pufferlösung von p_H 8,6 (μ = 0,1) bei 5 V/cm im Thermostaten (± 1° C) elektrophoresiert. Die Dauer betrug 1 Std, die Kurvenaufnahme erfolgte bei λ 546 mμ. *In der feuchten Kammer* wurde die Elektrophorese mit 5 Papierstreifen ausgeführt bei p_H-Werten zwischen 6,6 und 9,4 jeweils 12 Std lang bei 100, 200 und 350 V. Die Prüfung der Papierelektropherogramme wurde mit filtrierter UV-Strahlung vorgenommen. Außerdem wurden die Reaktionen auf Cholesterin, Mucopolysaccharide, Proteine und Gallenfarbstoffe durchgeführt. Während im nichtkonzentrierten Gallensaft (des Kaninchens) 3 Komponenten, von denen die langsamste gelb, die raschest bewegliche blau fluoresciert, festgestellt wurden, weist der eingeengte 4 Fraktionen verschiedener Beweglichkeit zur Kathode auf. Die schnellste fluoresciert rot.

H. Freytag

Die Identifizierung und Isolierung von Androsteron aus peripherem menschlichem Blut gelang C. J. Migeon[2]. Das Plasma wurde mit Schwefelsäure auf p_H 0,5 gebracht, 48 Std kontinuierlich mit Äther extrahiert, der Äther 2mal mit 0,1 Vol. 10%iger $NaHCO_3$-Lösung und 2mal mit 0,2 Vol. Wasser gewaschen und im Luftstrom getrocknet. Der Rückstand wurde durch Chromatographie an einer Florisilsäule gereinigt und der phenolische Anteil abgetrennt[3]. Der Rest ergab bei der Papierchromatographie nach I. E. Bush[4] mit Benzol-Petroläther (33: 66) und Methanol-Wasser (80: 20) bzw. Petroläther und Methanol-Wasser (85: 15) jeweils 2 Flecken beim Besprühen mit Zimmermann-Reagens[5]. Sie hatten die R_f-Werte von Dehydroepiandrosteron und Androsteron. Die Androsteronfraktion einer Reihe von Chromatogrammen wurde eluiert und ein Teil davon acetyliert[3]. Das Reaktionsprodukt hatte bei der Papierchromatographie mit Petroläther und Methanol-Wasser (85: 15) den R_f-Wert des Androsteronacetats (0,780). Ein anderer Teil des Eluats ergab bei der Mikro-Zimmermann-Reaktion[6] ein für 17-Ketosteroide charakteristisches Spektrum. Schließlich zeigten auch UR-Spektrum sowie Schmelz- und Mischschmelzpunkt, daß es sich um Androsteron handelte. — Bei normalen Männern wurden etwa 18 μg Androsteron/100 ml, bei Frauen rund 22,5 μg/100 ml Plasma quantitativ bestimmt. Das Androsteron liegt im Blut wahrscheinlich als Sulfat vor.

H. Pelzer

---

[1] Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **31**, 764—766 (1955). Univ. Bologna (Italien).

[2] J. biol. Chemistry **218**, 941—944 (1956). Univ. Salt Lake City, Utah, Johns Hopkins Univ. u. Hosp. Baltimore, Maryland (USA).

[3] Migeon, C. J., und J. E. Plager: J. biol. Chemistry **209**, 767 (1954).

[4] Biochemic. J. **50**, 370 (1952); vgl. diese Z. **137**, 440 (1952/53).

[5] Savard, K.: Federation Proc. **11**, 281 (1952).

[6] Migeon, C. J., und J. E. Plager: Recent Progr. Hormone Res. **9**, 235 (1954).

Eine Übersicht über die chemischen Bestimmungsverfahren von Harncorticosteroiden gibt R. Borth[1]. Nach Besprechung der methodischen Grundlagen und nach Zusammenstellung der colorimetrischen Reaktionen entwickelt Verf. ausführlich die theoretischen Grundlagen der Extraktion. Es folgen eigene Hydrolyseversuche mit bakterieller β-Glucuronidase und mit Schwefelsäure. Gaben von ACTH vermehren die Ausscheidung von Corticosteroiden im Harn. Zum Schluß bespricht Verf. noch die Methoden kritisch, die eine Hydrolyse vermeiden (111 Literaturzitate). E. Müller, Würzburg

Eine chromatographische Adsorptionsmethode zur quantitativen Bestimmung und Trennung von Oestron, Oestradiol und Oestriol im Urin einer nichtschwangeren Frau beschreiben E. A. Kakuškina und V. G. Orlova[2]. — *Arbeitsweise.* 250 ml Urin (Durchschnittsprobe von 24 Std) werden mit 15%iger konz. Salzsäure 10 min lang hydrolysiert und nach dem Erkalten werden alle Steroide mit Äther, der vorher 2mal mit gesättigter Na_2CO_3-Lösung gewaschen worden ist, extrahiert. Zur Ausscheidung von sauren Phenolsteroiden aus der Ätherlösung wird 0,1 n NaOH-Lösung zugesetzt, der Äther verdampft, der Rückstand wird in Toluol gelöst, mit 0,1 n NaOH-Lösung extrahiert, die Lösung wird mit Salzsäure angesäuert und die Oestrogene werden mit Äther aufgenommen. Nach dem Verdampfen des Äthers wird der Niederschlag in 3 ml 2%iger Methanollösung in Benzol aufgelöst und durch eine aktivierte Al_2O_3-Säule (10 mm ∅, 100 mm hoch, Inhalt 3 g Al_2O_3, befeuchtet mit 3 ml Benzol) geschickt. Die Hormonelution aus der Säule erfolgt mit Methanol-Benzollösung; und zwar werden Oestron mit 15 ml 2%iger Lösung, Oestradiol mit 10 ml 5%iger Lösung, Oestriol mit 10 ml 30%iger Lösung einzeln aufgefangen. Das Lösungsmittel wird entfernt und die Oestrogene werden quantitativ nach der Koen-Farbreaktion photocolorimetrisch oder photometrisch bei 500 mμ bestimmt.
Martha Wildau

Die verteilungschromatographische Trennung von Oxytocin und Vasopressin beschreibt P. G. Condliffe[3]. *Vorbereitung der Trennsäule:* Hyflo-Super-Cel (Fa: Johns-Manville) wäscht man dreimal abwechselnd mit 3 n Salzsäure und Wasser aus. Dann knetet man 6 g des getrockneten Materials mit 4 ml mit 0,1 n Essigsäure gesättigtem 2-Butanol (B) durch, rührt es 1 Std lang mit 200 ml des gleichen Lösungsmittels, läßt absitzen und dekantiert. Den Bodensatz füllt man unter Ausschluß von Luftblasen in eine 0,9 × 40 cm große Glasröhre und stampft ihn vorsichtig zu einem Volumen von etwa 20 ml zusammen (Höhe 32 cm). Nun löst man 25 mg 8-Oxychinolin in 2 ml B, bringt es auf die Spitze der Säule und entwickelt mit 20—30 ml B, bis das zunächst entstehende grüne, bald schwarz werdende Band die Kolonne durchgewandert hat und ausgespült ist. Unter Anwendung der gleichen Technik lassen sich Säulen von 24 g Hyflo-Super-Cel in 1,9 cm starken Rohren herstellen. — *Entwicklung.* 1—2 mg des zu trennenden Materials bringt man in 0,5 ml B gelöst auf die Spitze der 6 g-Säule, spült es mit 3 mal 0,2 ml B in die Kolonne und entwickelt mit 150 ml B innerhalb von 3 Tagen, wobei Fraktionen von je 0,5 ml aufgefangen werden. Nachdem 100 ml B die Kolonne passiert haben, ersetzt man die Entwicklungsflüssigkeit durch n-Butanol-n-Propanol-0,1 n Salzsäure (1 : 2 : 1) oder eluiert die Säule mit 0,1%iger Essigsäure. Der Nachweis der Peptide erfolgt mit dem von O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr und R. J. Randall[4] modifizierten Folin-Phenolreagens oder bei Anwendung der größeren Kolonne durch Messung der UV-Absorption bei 275 mμ. K. Söllner

[1] Chimia **10**, 49—58, 81—90 (1956). Univ. Genf (Schweiz).
[2] Biochimija **21**, 26—32 (1956) [Russisch]. Inst. Gynäkol. Minsdrav, Moskau.
[3] J. biol. Chemistry **216**, 455—464 (1955). Cornell Univ., New York (USA).
[4] J. biol. Chemistry **193**, 265 (1951).

Die Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid (INH) in Körperflüssigkeiten gründen H. HARTING und P. v. GERZANITS[1] auf nachstehende, mit Cyanoferrat III in alkalischer Lösung erfolgende Reaktion: $C_5H_4N{\cdot}CO{\cdot}NH{\cdot}NH_2 + O \rightarrow C_5H_4N{\cdot}CHO + H_2O + N_2$. In Teil *A* des in Abb. 1 dargestellten Apparates bringt man die zu analysierende Flüssigkeit (z. B. 50 ml Urin) und versetzt diese mit 5 ml 20%iger, mit Leitungswasser (dieses ist N_2-gesättigt) bereiteter Natronlauge. In *B* pipettiert man 10 ml 20%ige, ebenfalls mit Leitungswasser hergestellte Kaliumcyanoferrat(III)-lösung, wobei keinesfalls eine Vermischung beider Flüssigkeiten erfolgen darf. Nach Verschließen des Reaktionsgefäßes bringt man bei geöffnetem Hahn des *T*-Stückes das in der Gasbürette *C* und in dem Niveaurohr *D* kommunizierende Sperrwasser auf gleiche Meniscushöhe. Nach 5 min langem Stehen zum Temperaturausgleich schließt man den Hahn des *T*-Stückes, vermischt durch Neigen des Kolbens die Inhalte von *A* und *B*, schwenkt 1 min langsam um und läßt nochmals 10 min lang ruhig stehen. Nach erneuter Einstellung des Sperrwassers in *C* und *D* auf gleiche Höhe liest man das Volumen des entwickelten N_2 ab und ermittelt dessen Gewicht unter Berücksichtigung von Temperatur und Luftdruck. Durch Multiplikation dieses Wertes mit 4,893 erhält man das Gewicht des vorgelegten INH. Eine dem Original beigegebene Tabelle erspart die Rechnung. Da Thosemicarbazone bei der beschriebenen Behandlung ebenfalls N_2 entwickeln, dürfen sie dem Patienten vor der Durchführung der Analyse nicht verabreicht werden. K. SOLLNER

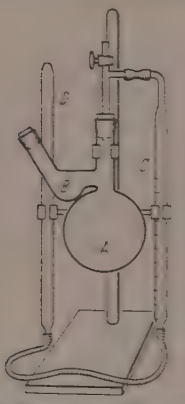


Abb. 1. Apparatur zur Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid nach HARTING und VON GERZANITS

Die Bestimmung von Desoxyribonucleinsäure in μg-Größenordnung mit *Ultrarotspektroskopie* beschreiben H. P. SCHWARZ, R. CHILDS, L. DREISBACH und S. V. MASTRANGELO[2]. Desoxyribonucleinsäure (DNS) wird in Wasser gelöst; man stellt Mischungen mit 1,2%iger Kaliumbromidlösung derart her, daß 10 ml genau bekannte Mengen von 20—300 μg DNS bzw. die unbekannte Probe enthalten. Die Lösung wird der Gefriertrocknung unterworfen. Vom Trockenrückstand lassen sich Preßlinge von gleichem Gewicht (50 mg) und gleicher Dicke (1 mm) herstellen. Die Absorption wird bei 8,1; 9,80 und 10,30 μ gemessen. Die Meßpunkte für 9, 18, 27, 36, 54 und 72 μg DNS liegen bei allen drei Wellenlängen auf einer Geraden.
E. MÜLLER, Würzburg

Zur Bestimmung von Pipecolinsäure (PS) in biologischem Material extrahiert man dieses nach einem Verfahren von O. O. SILBERSTEIN, R. W. ADELMAN und J. F. THOMPSON[3] mit soviel 95%igem Äthanol (A), daß dessen Endkonzentration nicht weniger als 75% beträgt. Nach dem Absaugen des Auszuges wiederholt man die Extraktion mit 75%igem A so oft, bis sich alle Aminosäuren (AS) in Lösung befinden. Trockenes Untersuchungsmaterial behandelt man ebenso mit 75%igem A, bei carbonathaltigen Proben säuert man die Auszüge vor der Weiterverarbeitung an. Nun läßt man die vereinigten Auszüge zur Trennung von den nichtionisierten

[1] Acta med. biol. (Niigata) **2**, 643—648 (1954). Chem. Fabr. Hartung y Cia. Santiago u. Sanator. Putaendo (Chile).
[2] Science (Lancaster, Pa.) **123**, 328—329 (1956). General Hosp., Philadelphia, Pa.
[3] Analyt. Chemistry **28**, 855—857 (1956). Agricult. Res. Service, Ithaca, N. Y.

Substanzen eine Dowex I-Säule passieren, überzeugt sich durch Prüfung mit Ninhydrin, daß alle AS adsorbiert sind und wäscht die Kolonne mit entionisiertem Wasser bis zum Verschwinden der Zuckerreaktion im Waschwasser. Dann löst man die AS mittels n Salzsäure aus dem Harz, läßt das Eluat bei Raumtemperatur eintrocknen, löst den Trockenrückstand in Wasser, stellt die Lösung auf p_H 9,5 bis 10,5 ein und verdünnt sie so, daß 1 ml zwischen 1 und 20 μg PS enthält. Nun füllt man eine Glasröhre von 0,9 cm Kaliber 30 cm hoch mit der angeschlämmten Alkaliform von Dowex 50-X 12, bringt auf die Spitze der Säule 1 ml der PS-Lösung, spült 2mal mit je 1 ml Wasser nach und läßt schließlich 13 ml Wasser durch die Säule laufen, wodurch die AS eluiert werden. Das mit weiteren 10 ml Wasser gewonnene PS-Eluat fängt man gesondert auf, trocknet es bei Raumtemperatur durch Einblasen von Luft, nimmt den Rückstand in 1 ml Ninhydrinlösung (4 g Ninhydrin werden frisch in 90 Tl. n-Butanol und 10 Tl. 1 m Phosphorsäure gelöst) auf, verschließt das Glas und schüttelt. Unter Lichtabschluß erhitzt man diese Lösung genau 15 min im siedenden Wasserbad, kühlt rasch ab und verdünnt mit Essigester auf 5 oder 10 ml. Die Extinktion dieser Lösung wird bei 575 mμ bestimmt und mit einer Standardkurve verglichen. Ist gleichzeitig Prolin vorhanden, so wird auch die optische Dichte bei 510 mμ ermittelt und der Gehalt an PS in bekannter Weise aus 2 Gleichungen mit 2 Unbekannten berechnet. K. Söllner

Über die qualitative und quantitative Bestimmung von Diphenylpiperidinoäthylacetamid-brommethylat (I), seinen Nachweis im Harn und Kot sowie seine Ausscheidung aus dem Tierkörper berichtet A. Häussler[1]. Verf. benutzt eine in Methylenchlorid lösliche, gefärbte Additionsverbindung mit Diphenylaminoazo-p-benzolsulfosaurem Natrium (Tropäolin 00) zur quantitativen Bestimmung. Das Beersche Gesetz ist in den nachstehend angegebenen Grenzen erfüllt. — *Arbeitsvorschrift.* 0,1—50 ml (entsprechend etwa 25—150 μg) einer wäßrigen Lösung von (I) werden mit dem gleichen Volumen Phosphatpufferlösung nach Soerensen (p_H 7,3) und mit 3 ml 0,1%iger wäßriger Tropäolinlösung versetzt und 4mal mit 5 ml Methylenchlorid ausgeschüttelt. Die gesammelten Methylenchloridauszüge werden scharf zentrifugiert, unter Vermeidung jeglicher Wasserspuren in einen 25 ml-Meßkolben gebracht, mit 1 ml Säurereagens (1 ml konz. Schwefelsäure mit Methanol auf 100 ml verdünnt) versetzt und mit Methylenchlorid aufgefüllt. Die sich sofort entwickelnde, leuchtend rotviolette Farbe ist über viele Stunden haltbar und wird mit dem Lange-Colorimeter unter Verwendung des grünen Filters gemessen. — *Zur Bestimmung von (I) im Harn* werden 3 Teile der Urinprobe mit 2 Teilen Aluminiumoxyd (nach Brockmann) gemischt, kräftig durchgeschüttelt und anschließend filtriert. Bei 24 Std-Harn wird zur Vermeidung der Zersetzung eine Sublimatlösung in das Sammelgefäß gebracht. Die Bestimmung von (I) im frischen oder im Eisschrank aufbewahrten Kot erfolgt nach gründlichem Mischen, indem ein aliquoter Teil mit trichloressigsaurem Wasser (80 ml Wasser und 20 ml 10%ige Trichloressigsäurelösung) im Soxlethapparat während etwa 2 Std extrahiert, der Extrakt mit Aluminiumoxyd geschüttelt und nach der Filtration wie beschrieben weiterbehandelt wird. — Da die Methode für den *qualitativen Nachweis* nicht spezifisch ist, muß noch zusätzlich ein Bromnachweis durchgeführt werden. Hierzu wird die Methylenchloridausschüttelung auf dem Wasserbad eingedunstet und der erkaltete Rückstand mit Salzsäure befeuchtet. Es tritt eine rotviolette Färbung auf. Nach gutem Durchmischen mit Tetrachlorkohlenstoff und Chlorkalk (Entfärbung) wird die abgetrennte Tetrachlorkohlenstoffphase filtriert und tropfenweise mit einer Dithizonlösung (0,3 mg in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff) versetzt. Je nach der vorhandenen Brommenge entsteht eine gelbe bis blaßrote oder intensiv rote bis blauviolette Färbung. K. Wagner

[1] Arzneimittel-Forsch. **6**, 142—145 (1956). Farbwerke Hoechst A.G.

Spektrophotometrische Bestimmung von Kreatin-Phosphokinase und Myokinase in stark verdünnten Gewebehomogenaten. I. T. OLIVER[1] entwickelt eine Methode, bei welcher das aus Adenosindiphosphat (ADP) und Kreatinphosphat in Gegenwart dieser Enzyme gebildete Adenosintriphosphat (ATP) mit der Methode von A. KORNBERG[2] bestimmt wird. ATP reagiert in Gegenwart von Mg-Ionen und Hexokinase mit Glucose unter Bildung von Glucose-6-phosphat, das dann durch Glucose-6-phosphat-dehydrogenase unter Reduktion von Triphosphopyridinnucleotid (TPN) zu 6-Phosphogluconsäure oxydiert wird. Die spektrophotometrische Bestimmung von reduziertem TPN (= $TPNH_2$) bei 340 mμ ergibt dem gebildeten ATP äquivalente Werte und ermöglicht so die Ermittlung der Enzymaktivität (Extinktionskoeffizient von $TPNH_2$ nach B. L. HORECKER und A. KORNBERG[3] = $6{,}22 \cdot 10^6$ cm^2/Mol) In Gewebehomogenaten bildet Myokinase aus 2 ADP auch ATP und Adenylsäure (AMP). Durch Zugabe eines zehnfachen Überschusses von AMP wird Myokinase vollständig gehemmt und dadurch wird eine Unterscheidung der durch beide Enzymwirkungen katalysierten ATP-Bildung möglich. Die Bestimmungen erfolgen in folgendem Reaktionsgemisch: 0,05 Mol Veronalpuffer p_H 8,6, 0,01 Mol $MgCl_2$, 0,1 Mol KCl, 10^{-4} Mol TPN, 0,1 ml = 1 mg Hefetrockenpräparat, genannt „coupling enzyme", Hexokinase und Glucose-6-phosphatdehydrogenase enthaltend, — 0,001 Mol ADP, 0,01 Mol Kreatinphosphat, 0—20 μl Muskelhomogenat 1:60 verdünnt, entsprechend 0—0,33 mg Muskelfeuchtgewicht. und bei Bestimmung von Kreatin-Phosphokinase: 0,01 Mol AMP, bei Bestimmung von Myokinase dagegen kein AMP und gereinigtes TPN, frei von AMP. — In einem typischen Versuch wurde die Kreatin-Phosphokinase-Aktivität bei 25° C spektrophotometrisch (bei 340 mμ) zu 2,85 μMol ATP je Stunde und Milligramm Muskelfeuchtgewicht ermittelt. Übereinstimmend ergab die folgende analytische Methode: 2,33 μMol ATP/Std/mg. — Hierzu wurde aus dem Reaktionsgemisch nach Enteiweißen mit Trichloressigsäure und Neutralisieren Kreatinphosphat mit einem alkalischen Lösungsmittelgemisch von C. S. HANES und F. A. ISHERWOOD[4], bestehend aus n-Propanol, konz. Ammoniak und Äthylendiamintetraessigsäure, von Adenosinphosphaten, anorgan. Phosphat, Triose- und Hexosephosphaten chromatographisch getrennt. Auf diese Weise konnte die Abbaugeschwindigkeit von Kreatinphosphat bestimmt werden. Durch Zugabe von 0,01 Mol Cystein wird die Kreatin-Phosphokinase-Aktivität verdoppelt, während auf Myokinase keine Cysteinwirkung nachweisbar ist. — Untersucht wurden Skelett und Herzmuskel, Hirn-, Nieren-, Leber- und Milzgewebe von weißen Ratten. Da der ATP-ase-Gehalt von Leber, Niere und Milz den Nachweis des gebildeten ATP stört, wird ATP-ase durch 15 min Zentrifugieren entfernt. H. CARLS

5. Toxikologische Analyse

Zum toxikologischen Nachweis der Barbiturate mittels Papierchromatographie geben M. LEDVINA, B. CHUNDELA, B. VEČEREK und K. KÁCL[5] folgendes verbessertes Verfahren an. Als Lösungsmittel eignet sich am besten die obere Phase des Gemisches Amylalkohol-20%ige Ammoniaklösung (2:1). Auf den Boden der Chromato-

[1] Biochemic. J. **61**, 116—122 (1955). Univ., Sheffield (England).
[2] J. biol. Chemistry **182**, 779 (1950).
[3] J. biol. Chemistry **175**, 385 (1948).
[4] Nature (London) **164**, 1107 (1949).
[5] Československ. Farmac. **4**, 386—388 (1955). Univ. Prag.

graphierkammer kommt die wäßrige Phase des Gemisches. Gearbeitet wird absteigend auf Whatman-Papier Nr. 1 bei einer Laufzeit von etwa 24 Std. Zur Sichtbarmachung der Flecke werden die Chromatogramme vor und nach dem Besprühen mit 0,5 n Natronlauge im UV-Licht bei der Wellenlänge 254 mμ photographiert. Monochromatisches Licht dieser Wellenlänge wird mit der Quecksilberlampe unter Verwendung des Jenaer Glasfilters UG 5 und eines Chlorfilters erhalten. Als Chlorfilter dient eine mit Chlorgas gefüllte Quarzküvette von 30 mm Lichtweg. Die Barbiturate erscheinen nach dem Besprühen mit der Alkalilauge als helle Flecke auf dunklem Grund, vor dem Besprühen sind sie unsichtbar. Dies kommt daher, daß sich das Absorptionsmaximum der Barbiturate beim Besprühen mit Lauge verschiebt. Da die meisten anderen, in biologischen Materialien enthaltenen Stoffe ihre Absorption beim Alkalischmachen nicht ändern, ist auf diesem Wege eine Identifizierung der Barbiturate möglich. 10 μg Barbiturat sind noch nachzuweisen. — *Zur Bestimmung der Barbiturate im Urin* schüttelt man 10 ml Urin 2mal mit Äther aus, verdampft die ätherische Lösung nach Zugabe einiger Tr. Alkohol, löst den Rückstand in Alkohol und chromatographiert wie angegeben. 0,5 mg-% Barbiturat sind noch nachzuweisen. — Die Originalarbeit enthält die R_f-Werte einer Reihe von Barbituraten.

A. Kurtenacker

Eine Methode zur Isolierung von α-Naphthylthioharnstoff (ANTU) aus Organen mit nachfolgender Identifizierung beschreibt F. Dybing.[1] — *Arbeitsweise. Extraktion und Reinigung.* Gut zerkleinertes Organmaterial extrahiert man auf einem Wasserbad mit 95%igem Alkohol, filtriert nach dem Abkühlen, dampft das Filtrat bei vermindertem Druck ein und reinigt den Rückstand durch Fällen mit absolutem Alkohol und anschließende Filtration. Das Filtrat wird wiederum bei vermindertem Druck eingedunstet und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Die wäßrige Lösung, die ein Volumen von etwa 50 ml haben soll, versetzt man mit der gleichen Menge Methanol und schüttelt zur Entfernung der Fettsubstanzen 2—3mal mit n-Heptan aus. Nachdem man den Methylalkohol durch Vakuumdestillation entfernt hat, erhält man aus der wäßrigen Phase den α-Naphthylthioharnstoff durch dreimaliges Ausschütteln mit Chloroform. Den Chloroformextrakt trocknet man mit wasserfreiem Natriumsulfat, filtriert und verdampft das Lösungsmittel. Zur Reinigung empfiehlt Verf. die absteigende eindimensionale Papierchromatographie. Man taucht den Filtrierpapierstreifen in eine Mischung von Formamid und Aceton (3 + 7), läßt trocknen und beschickt das Papier mit dem Probetropfen. Den präparierten Streifen hängt man nun in das mit Chloroformdampf gesättigte Entwicklungsgefäß (60 × 25 × 20 cm), wobei als Lösungsmittel ein Gemisch von Chloroform und Formamid dient. Hat die Lösungsmittelfront 30 bis 40 cm erreicht, wird das Papier dem Gefäß entnommen und bei etwa 70° C getrocknet. Der R_f-Wert für α-Naphthylthioharnstoff beträgt bei 20° C 0,44; die R_f-Werte für α-Naphthol und α-Naphthylamin, die als Begleitstoffe vorkommen können, liegen bei 0,62 bzw. 0,92. Die Abtrennung dieser Verbindungen vom α-Naphthylthioharnstoff ist daher möglich. — Zur Sichtbarmachung der Flecke besprüht man den Filtrierpapierstreifen mit 3%iger Natronlauge und prüft im UV-Licht. Bei Gegenwart von α-Naphthylthioharnstoff (wenigstens 2 μg) erscheint ein blau fluorescierender Fleck. α-Naphthol und α-Naphthylamin zeigen die Fluorescenz schon vor dem Besprühen. Mit Dragendorffs Reagens geben 10 μg α-Naphthylthioharnstoff einen braunen Fleck, α-Naphthol gibt keine Färbung, größere Mengen α-Naphthylamin (25 μg) zeigen Rotfärbung. Zur Identifizierung schneidet man den Fleck aus, eluiert mit Aceton, dampft ein, löst den Rückstand in wenig Chloroform,

[1] Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **11**, 388—392 (1955). Univ. Oslo (Norwegen).

versetzt mit Bromwasser, schüttelt und gibt einen Überschuß an Natronlauge hinzu. Eine blaue bis bläulichviolette Färbung des Chloroforms zeigt α-Naphthylthioharnstoff an. Beim Schütteln der Chloroformschicht mit 60%iger Schwefelsäure soll die Färbung unverändert bleiben. Soll das Absorptionsspektrum von α-Naphthylthioharnstoff im UV aufgenommen werden, so eluiert man das Chromatogramm mit 5 ml 95%igem Alkohol und untersucht die Lösung im UV-Spektrophotometer.

B. Schühlein

Über die Extraktion von 3,3-Diäthyl-2,4-dioxotetrahydropyridin (Persedon) aus biologischem Material und die nachfolgende Bestimmung berichtet F. Dybing[1]. — *Arbeitsweise. Extraktion und Reinigung.* Zerkleinertes *Organmaterial* extrahiert man mit 95%igem Alkohol, der mit Weinsäure angesäuert ist. Nach dem Abkühlen filtriert man, engt das Filtrat bei vermindertem Druck ein und reinigt den Rückstand durch Fällen mit absolutem Alkohol und anschließende Filtration. Das Filtrat wird eingedampft und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wäßrige Lösung schüttelt man dreimal mit jeweils dem gleichen Volumen Äthyläther, Chloroform oder Äthylacetat, trocknet mit wasserfreiem Natriumsulfat und verdampft das Lösungsmittel. *Urin* säuert man mit Weinsäure an und engt durch Destillation bei vermindertem Druck auf ein geringeres Volumen ein. Auch hier reinigt man den Rückstand durch Fällen mit absolutem Alkohol und Abfiltrieren des Niederschlages. Die weitere Aufarbeitung erfolgt in der für Organmaterial angegebenen Weise. — Zur *Isolierung* von Persedon löst man den Rückstand in wenig Methanol und untersucht einen aliquoten Teil der Lösung papierchromatographisch nach der absteigenden eindimensionalen Methode. Bei Anwendung von Formamid/Chloroform (mit 1% Äthylalkohol) als Lösungsmittel taucht man den Filtrierpapierstreifen (Whatman Nr. 1) zuvor in eine Mischung von Formamid und Aceton (3 + 7). Einige Minuten vor dem Aufbringen der Substanz trocknet man den Streifen, beschickt ihn dann mit der Probe und bringt ihn in das mit Chloroformdampf gesättigte Entwicklungsgefäß (60 × 25 × 20 cm). Hat die Lösungsmittelfront etwa 30 cm erreicht, so entnimmt man das Papier dem Gefäß und trocknet bei 70° C. Der R_f-Wert für 25 μg Persedon beträgt 0,75. Das Papierchromatogramm besprüht man nun mit 3%iger Natronlauge und prüft im feuchten Zustand im UV-Licht. Bei Gegenwart von Persedon ist eine bläulichgrüne Fluorescenz bis herab zu Mengen von 0,1 μg zu beobachten. Der Fleck wird herausgeschnitten, mit 5 ml 0,1 n Schwefelsäure eluiert und das Absorptionsspektrum der Lösung im UV von 220—330 mμ aufgenommen und verglichen mit der UV-Absorption einer Lösung von reinem Persedon.

B. Schühlein

[1] Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **11**, 393—397 (1955). Univ. Oslo (Norwegen).